

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001 年10 月4 日 (04.10.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/73022 A1

(51) 国際特許分類⁷: C12N 15/12, C12Q 1/68, C07K 14/47

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/02623

(22) 国際出願日: 2001 年3 月29 日 (29.03.2001)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2000-90137 2000 年3 月29 日 (29.03.2000) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 協和醸酵工業株式会社 (KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD.) [JP/JP]; 〒100-8185 東京都千代田区大手町一丁目6番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 竹内京子 (TAKEUCHI, Kyoko) [JP/JP]. 関根 進 (SEKINE, Susumu) [JP/JP]. 桜田一洋 (SAKURADA, Kazuhiro)

[JP/JP]; 〒194-8533 東京都町田市旭町3丁目6番6号 協和醸酵工業株式会社 東京研究所内 Tokyo (JP). 菊池泰弘 (KIKUCHI, Yasuhiro) [JP/JP]; 〒100-8185 東京都千代田区大手町一丁目6番1号 協和醸酵工業株式会社 本社内 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

[続葉有]

(54) Title: PROLIFERATIVE GLOMERULAR NEPHRITIS-ASSOCIATED GENE

(54) 発明の名称: 増殖性糸球体腎炎関連遺伝子

(57) Abstract: A gene which is useful in searching for remedies repairing damaged tissues in kidney diseases; a polypeptide encoded by this gene; and an antibody recognizing this polypeptide. In a model animal of proliferative glomerular nephritis, a gene showing changes in the expression dose due to the progress of the disease and recovery is obtained and a polypeptide encoded by this gene DNA and an antibody recognizing this polypeptide are produced. These gene DNA, polypeptide and antibody are usable in searching for drugs for repairing damaged kidney tissues and drugs for diagnosing kidney disorders.

(57) 要約:

腎臓疾患において障害を受けた組織を修復する治療薬の探索に有用な遺伝子、該遺伝子にコードされるポリペプチド、および該ポリペプチドを認識する抗体を提供する。

増殖性糸球体腎炎モデル動物における病態の進行と回復に応じて発現量が変化する遺伝子を取得し、該遺伝子DNAにコードされるポリペプチド、および該ポリペプチドを認識する抗体を製造する。これら遺伝子DNA、ポリペプチドおよび抗体は障害を受けた腎臓組織を修復するための薬剤並びに腎臓障害の診断のための薬剤の探索に利用することができる。



WO 01/73022 A1



2文字コード及び他の略語については、定期発行される各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明細書

増殖性糸球体腎炎関連遺伝子

技術分野

本発明は、増殖性糸球体腎炎の修復期に発現量が上昇するmRNAを基にして、サブトラクション法およびディファレンシャルハイブリダイゼーション法を用いて取得した該mRNAに相補するDNA（cDNA）および該cDNAがコードするポリペプチドに関する。また、該ポリペプチドに対する抗体、該ポリペプチドおよび該DNAの検出方法、ならびに該DNA、ポリペプチド、抗体などを含む腎疾患の診断薬および治療薬に関する。

背景技術

腎臓は予備機能が高く、残存機能が通常の半分になっても機能障害による症状が認められないことが多い。高度に分化した細胞群より成るネフロンへの障害は不可逆的であり、糸球体硬化に始まる組織構造の崩壊は尿細管障害、間質の繊維化を伴い最終的には腎透析が必要な重度な腎不全状態に陥る。この過程は原疾患の種類に関係なく、ほぼ共通であると考えられている。臨床では残存ネフロンへの負荷を軽減し、透析導入までの期間を延長させることを主目的として、ステロイド剤、経口吸収剤、降圧剤、ACE阻害剤などの投与、低タンパク食療法などが用いられている。しかし、腎不全の発症と進行のメカニズムには不明な点が多く、根本的な治療法は確立されていない。

小児や一部の動物モデルにおける増殖性糸球体腎炎においては、糸球体や尿細管に障害を受けた後に持続的な腎機能低下に向かわず自然治癒することが知られているが、この自然治癒の機構も不明である。この増殖性糸球体腎炎の病態進行あるいは自然治癒の機構を分子レベルで解析することは、腎疾患の診断や治療薬の開発に重要であると考えられる。このためには例えば、腎疾患の進行と回復に応じて発現量が変化するような遺伝子群を包括的に取得し、解析していくことが有効な手段である。実際の腎疾患患者組織を用いてこのような解析を行うことは、組織の入手や患者による症状の不均一性から困難である。増殖性糸球体腎炎の適切なモデル動物を使えば、包括的な遺伝子群の取得と分子レベルでの解析を比較的容易に行うことができると考えられる。このように取得された遺伝子の中に

は、原理的に、病態の進行や回復のマーカーとなる因子、さらに回復を積極的に促進する因子が含まれると考えられる。

腎炎のモデル動物としてラットを中心にいくつかの実験モデルが知られている。その中でメサングウム細胞の膜蛋白として存在するThy-1.1抗原に対する抗体（抗Thy-1抗体）をラットに静脈内投与して得られるラットのThy-1腎炎モデル〔Laboratory Investigation, 55, 680 (1986)〕（以下、この腎炎モデルラットをThy-1腎炎ラットと呼ぶ）は、病態の進行と病理所見の解析がかなりなされている。Thy-1腎炎ラットでは、メサングウム融解に次いで、間質への炎症性細胞浸潤を伴う尿細管障害が認められ、続いてメサングウム細胞の増殖と細胞外基質の産生がおこる。その後、障害を受けた組織の再構成が起こり、2週間あまりで自然治癒することが知られており、Thy-1腎炎ラットは、増殖性糸球体腎炎の症状の進行と自然治癒のモデルとして適していると考えられる。

Thy-1腎炎ラットの腎臓の状態の分子レベルでの解析、たとえば腎臓の状態で発現量に変化している遺伝子については、今までにもいくつかの報告がなされている。例えばメサングウム細胞の増殖に関与すると考えられるTGF- β 〔J. Clin. Invest., 86 453 (1990)〕、ヘパリン結合性EGF様増殖因子〔Experimental Nephrology, 4, 271 (1996)〕、PDGF〔Proc. Natl. Acad. Sci. US A, 88, 6560 (1991)〕、FGF〔J. Clin. Invest., 90, 2362 (1992)〕などの増殖因子あるいはタイプIVコラーゲン〔Kidney International, 86, 453 (1990)〕、ラミニン〔Kidney International, 86, 453 (1990)〕、テネイシン〔Experimental Nephrology, 5, 423 (1997)〕、プロフィリン、CD44〔J. American Society of Nephrology, 7, 1006 (1996)〕などの細胞外マトリックスに関連するポリペプチドなどの遺伝子についての報告である。

糸球体腎炎におけるTGF- β 、PDGF等の増殖因子は、実験動物と同様、ループス腎炎やIgA腎症などヒトの糸球体腎炎でも高度の発現が認められることから、メサングウム細胞等の増殖反応、細胞外マトリックス産生刺激等を介した腎不全進行のメディエーターとして機能していると考えられる〔Pediatric Nephrology, 9, 495 (1995)〕。PDGF中和抗体〔J. Exp. Med., 175, 1413 (1992)〕やTGF- β の阻害因子デコリンの投与〔Nat. Med., 2, 418 (1996)〕はThy-1腎炎ラットで有効であることが報告されているが、これらの因子の効果

は臨床レベルでは確認されていない。

腎臓の発生に関与する因子を腎保護薬として開発することが米国 Creative BioMolecules 社により検討され、OP-1 (BMP 7) ポリペプチドが提供された。これは当初異所性の骨形成を誘導する因子として発見された、TGF- β スーパーファミリー内のBMPサブファミリーに属する因子である [EMBO J., 9, 2085 (1990)]。これは胎児期の腎発生時に尿管芽周囲の間葉系細胞に発現しており、上皮-間葉の相互作用に重要な因子である。また、これは最近、間葉細胞におけるアポトーシスを抑制することにより造腎組織の増殖と分化を可能にしていることが報告されている [Genes & Dev., 13, 1601 (1999)]。

Creative BioMolecules 社の組換えOP-1蛋白を慢性腎不全のモデル動物に投与した実験結果が、米国腎臓学会年次総会で報告された [日経バイオテク, 11月10日(1999)]。

米国 Washington 大学医学部が行ったこの前臨床試験には、片側輸尿管閉塞を起こさせた慢性腎不全モデルラットが用いられた。このモデルは慢性腎不全患者に見られる瘢痕化に非常によく似た、進行性の繊維形成と腎臓のダメージが起こる。試験の結果は、OP-1が、腎臓における瘢痕組織の形成を抑制し、尿細管の損傷を減らすことを示した。さらに、OP-1投与群では、正常な腎臓の濾過機能の約30%、正常時の腎臓の血流量の65%が保たれており、OP-1には腎機能保護効果もあることが示された。偽薬、ACE阻害剤投与群においては、濾過機能及び血流の測定は不可能だった。尿細管間質病変は、糸球体病変よりも、より腎機能の低下と相関するとともに、疾患の予後を予知できる代表的組織病変であるが、OP-1投与群のみに尿細管構造の保存が見られた。現在のところ腎臓における組織保護のメカニズムは明らかになっていないが、以上の結果は、成体の腎臓内にも、発生期の間葉系細胞の様にOP-1のターゲットとなる細胞群が存在することを示唆している。しかし、OP-1は腎臓以外にも様々な作用部位が存在し、とくに軟骨形成活性はOP-1の重篤な副作用の一つとされ、臨床応用を困難としている。従って、腎臓で特異的に発現し、OP-1の誘導あるいは、OP-1の下流において腎臓の再生機能を司る因子を見出すことが求められている。

間葉系組織でOP-1のようなBMPやTGF- β ファミリーに属する因子により誘導され、細胞の分化、遊走に関係する分子としてオートタキシン (autota

xin) が知られている。オートタキシンは癌細胞遊走活性を持つサイトカインとしてヒト・メラノーマ細胞株の培養上清から単離されクローン化された [J. Biol. Chem., 267, 683 (1996)]。

その後オートタキシンは発生期においては骨細胞および軟骨細胞への分化途中の間葉系細胞に発現しており [Mechanisms of Dev., 84, 121 (1999)]、また、骨および軟骨の前駆細胞を BMP 2 で刺激することにより発現が上昇することが示された [Dev. Dynam., 213, 398 (1998)]。オートタキシンは、構造上の相同性から PC-1 ファミリーと分類される。PC-1 ファミリーは PC-1、PD-1 α (autotaxin)、PD-1 β (B10) の3種のII型膜タンパク質からなり、いずれも細胞外にフォスフォジエステラーゼ I ; EC 3. 1. 4. 1 /ヌクレオチド ピロフォスファターゼ ; EC 3. 6. 1. 9 活性を持ち、また自己リン酸化能も有する。これらのことから、PC-1 ファミリーは BMP ファミリーに属する因子の刺激により発現し、細胞遊走、分化あるいは細胞間相互作用に重要な役割を果たしていることが示唆されている。

発明の開示

本発明の目的は、増殖性糸球体腎炎動物における病態の回復に応じて発現量が変化する遺伝子（増殖性糸球体腎炎関連遺伝子）を取得し、腎臓疾患において障害を受けた組織を修復するような治療薬の探索に有用なポリペプチド、該ポリペプチドをコードする DNA および該ポリペプチドを認識する抗体、並びにこれらの利用法を提供することにある。

【課題を解決する方法】

本発明者らは上記課題を解決すべく鋭意検討し、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は以下の (1) ~ (50) を提供するものである。

(1) 配列番号 2、4 および 6 に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする DNA。

(2) 配列番号 1、3 および 5 に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有する DNA。

(3) 配列番号 1、3 および 5 に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有する DNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ増殖性糸球体腎炎が発症した組織で発現量が増加する遺伝子を検出できる DNA。

(4) 配列番号1、3および5に表わされる塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列中の連続した5～60塩基と同じ配列を有するDNA。

(5) 配列番号1、3および5に表わされる塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAと相補的な配列を有するDNA。

(6) 上記(1)～(5)いずれか1つのDNAを用いて増殖性糸球体腎炎が発症した組織で発現量が増加する遺伝子のmRNAを検出する方法。

(7) 上記(1)～(5)いずれか1つのDNAを含有する、腎疾患の診断薬。

(8) 上記(1)～(5)いずれか1つのDNAを用いて腎疾患の原因遺伝子を検出する方法。

(9) 上記(1)～(5)いずれか1つのDNAを用いて増殖性糸球体腎炎が発症した組織で発現量が増加する遺伝子の転写もしくは翻訳を抑制または促進する物質をスクリーニングする方法。

(10) 上記(1)～(5)いずれか1つのDNAを用いて腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法。

(11) 上記(1)～(5)いずれか1つのDNAを含有する、腎疾患の治療薬。

(12) 上記(1)～(5)いずれか1つのDNAを含む組換えベクター。

(13) 上記(1)～(5)いずれか1つのDNAのセンス鎖と相同な配列からなるRNAを含む組換えベクター。

(14) 組換えベクターがウイルスベクターである、上記(12)または(13)のベクター。

(15) 上記(12)～(14)いずれか1項に記載の組換えベクターを含有する、腎疾患の治療薬。

(16) 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、8

1、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAを用いて、増殖性糸球体腎炎が発症した組織で発現量が増加する遺伝子のmRNAを検出する方法。

(17) 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAを含有する、腎疾患の診断薬。

(18) 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103

、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAを用いて腎疾患の原因遺伝子を検出する方法。

(19) 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAを用いて、増殖性糸球体腎炎が発症した組織で発現量が増加する遺伝子の転写もしくは翻訳を抑制または促進する物質をスクリーニングする方法。

(20) 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103

、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAを用いて、腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法。

(21) 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAを含有する、腎疾患の治療薬。

(22) 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121

、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAを含む組換えベクター。

(23) 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAのセンス鎖と相同な配列からなるRNAを含む組換えベクター。

(24) 組換えベクターがウイルスベクターである、上記(22)または(23)のベクター。

(25) 上記(22)～(24)いずれか1つの組換えベクターを含有する、腎疾患の治療薬。

(26) 上記(1)または(2)のDNAによりコードされるポリペプチド。

(27) 配列番号2、4および6に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチド。

(28) 上記(26)または(27)のポリペプチドの有するアミノ酸配列において1以上のアミノ酸が欠失、置換または付加したアミノ酸配列からなり、かつ障害を受けた腎臓の修復に関与する活性を有するポリペプチド。

(29) 上記(26)～(28)いずれか1つのポリペプチドをコードす

るDNAをベクターに組み込んで得られる組換え体DNA。

(30) 上記(29)の組換え体DNAを宿主細胞に導入して得られる形質転換体。

(31) 上記(30)の形質転換体を培地に培養し、培養物中に上記(26)～(28)いずれか1つのポリペプチドを生成蓄積させ、該培養物から該ポリペプチドを採取することを特徴とするポリペプチドの製造方法。

(32) 上記(30)の形質転換体を培地に培養し、得られる培養物を用いて腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法。

(33) 上記(26)～(28)いずれか1つのポリペプチドを用いて、腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法。

(34) 上記(26)～(28)いずれか1つのポリペプチドを含有する、腎疾患の治療薬。

(35) 上記(26)～(28)いずれか1つのポリペプチドを認識する抗体。

(36) 上記(35)の抗体を用いる、上記(26)～(28)いずれか1つのポリペプチドの免疫学的検出方法。

(37) 上記(35)の抗体を用いて、腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法。

(38) 上記(35)の抗体を用いて、増殖性糸球体腎炎を発症した組織で発現量が増加する遺伝子の転写もしくは翻訳を抑制または促進する物質をスクリーニングする方法。

(39) 上記(35)の抗体を含有する、腎疾患の診断薬。

(40) 上記(35)の抗体を含有する、腎疾患の治療薬。

(41) 上記(35)の抗体と放射性同位元素、ポリペプチドおよび低分子化合物から選ばれる薬剤とを結合させた融合抗体を腎臓障害部位へ誘導するドラッグデリバリー法。

(42) 配列番号8、10、12、14、16、158および160に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするDNAをベクターに組み込んで得られる組換え体DNA。

(43) 上記(42)の組換え体DNAを宿主細胞に導入して得られる形質転換体を培地に培養し、得られる培養物を用いて腎疾患の治療薬をスクリーニ

ングする方法。

(44) 配列番号8、10、12、14、16、158および160に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドを用いて、腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法。

(45) 配列番号8、10、12、14、16、158および160に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含有する、腎疾患の治療薬。

(46) 配列番号8、10、12、14、16、158および160に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドを認識する抗体を用いて、腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法。

(47) 配列番号8、10、12、14、16、158および160に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドを認識する抗体を用いて、増殖性糸球体腎炎を発症発した組織で発現量が増加する遺伝子の転写もしくは翻訳を抑制または促進する物質をスクリーニングする方法。

(48) 配列番号8、10、12、14、16、158および160に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドを認識する抗体を含有する、腎疾患の診断薬。

(49) 配列番号8、10、12、14、16、158および160に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドを認識する抗体を含有する、腎疾患の治療薬。

(50) 配列番号8、10、12、14、16、158および160に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドを認識する抗体と放射性同位元素、ポリペプチドおよび低分子化合物から選ばれる薬剤とを結合させた融合抗体を腎臓障害部位へ誘導するドラッグデリバリー法。

本発明のDNAは増殖性糸球体腎炎を発症した組織で発現量が増加する遺伝子DNAであり、例えば、配列番号2、4および6に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするDNA、配列番号1、3または5に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNA、および該DNAとストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズし、増

殖性糸球体腎炎を発症した組織で発現量が変化する遺伝子を検出できるDNAをあげることができる。

上記の配列番号1、3または5に表される塩基配列から選ばれる塩基配列とストリンジентな条件下でハイブリダイズ可能なDNAとは、配列番号1、3または5に表される塩基配列を有するDNAをプローブとして、コロニー・ハイブリダイゼーション法、ブランク・ハイブリダイゼーション法あるいはサザンブロットハイブリダイゼーション法等を用いることにより得られるDNAを意味し、具体的には、コロニーあるいはブランク由来のDNAを固定化したフィルターを用いて、0.7～1.0 mol/lの塩化ナトリウム存在下、65℃でハイブリダイゼーションを行った後、0.1～2倍濃度のSSC溶液（1倍濃度のSSC溶液の組成は、150 mmol/l塩化ナトリウム、15 mmol/lクエン酸ナトリウムよりなる）を用い、65℃条件下でフィルターを洗浄することにより同定できるDNAをあげることができる。ハイブリダイゼーションは、Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)（以下、モレキュラー・クローニング第2版と略す）、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987-1997)（以下、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジーと略す）、DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University (1995)等に記載されている方法に準じて行うことができる。ハイブリダイズ可能なDNAとして具体的には、BLAST [J. Mol. Biol., 215, 403 (1990)] や FASTA [Methods in Enzymology, 183, 63-98 (1990)] 等を用いて計算したときに、配列番号1、3または5に表される塩基配列と少なくとも60%以上の相同性を有するDNA、好ましくは80%以上の相同性を有するDNA、さらに好ましくは95%以上の相同性を有するDNAをあげることができる。

さらに、本発明のDNAとして、上記した本発明のDNAの一部の配列を有するオリゴヌクレオチドおよびアンチセンス・オリゴヌクレオチドも含まれる。該オリゴヌクレオチドとして、例えば、配列番号1、3または5に表される塩基配列から選ばれる塩基配列中の連続した5～60残基、好ましくは10～40残基の塩基配列と同じ配列を有するオリゴヌクレオチドをあげることができ、アンチセンス・オリゴヌクレオチドとして、例えば、該オリゴヌクレオチドのアンチセンス・オリゴヌクレオチドをあげることができる。

本発明のポリペプチドとしては、障害を受けた腎臓の修復に関連する活性（腎臓修復活性）を有するポリペプチド（腎臓修復因子）をあげることができ、具体的には、配列番号 2、4 および 6 に表されるアミノ酸配列から選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチド、または該ポリペプチドの有するアミノ酸配列において 1 以上のアミノ酸が欠失、置換または付加したアミノ酸配列からなり、かつ腎臓修復活性を有するポリペプチドをあげることができる。

配列番号 2、4 および 6 に表されるアミノ酸配列において 1 以上のアミノ酸が欠失、置換または付加されたアミノ酸配列からなり、かつ該蛋白質の有する増殖因子としての活性を有する蛋白質は、モレキュラー・クローニング第 2 版、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジーと略す）、Nucleic Acids Research, 10, 6487 (1982)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79, 6409 (1982)、Gene, 34, 315 (1985)、Nucleic Acids Research, 13, 4431 (1985)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 488 (1985) 等に記載の部位特異的変異導入法を用いて、例えば配列番号 2、4 および 6 に表されるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする DNA に部位特異的変異を導入することにより、取得することができる。

欠失、置換もしくは付加されるアミノ酸の数は特に限定されないが、上記の部位特異的変異法等の周知の方法により欠失、置換もしくは付加できる程度の数であり、1 個から数十個、好ましくは 1～20 個、より好ましくは 1～10 個、さらに好ましくは 1～5 個である。

また、本発明のポリペプチドが障害を受けた腎臓の修復に関連する活性を有するためには、配列番号 2、4 および 6 記載のアミノ酸配列と、BLAST や FASTA 等を用いて計算したときに、少なくとも 60% 以上、通常は 80% 以上、特に 95% 以上の相同性を有していることが好ましい。

以下、本発明を詳細に説明する

1 増殖性糸球体腎炎関連遺伝子の調製

① Thy-1 腎炎ラットの作製

メサングウム増殖性糸球体腎炎のモデルである Thy-1 腎炎ラットは文献〔Laboratory Investigation, 55, 680 (1986)〕に準じて以下のようにして作製する。ラットのメサングウム細胞の膜タンパク質として存在する抗 Thy-1.1 抗体を 1 mg/kg の用量で Wistar ラットなどの実験用ラットに静脈内

投与することにより、メサングウム融解病変が出現し、メサングウム基質の増生やメサングウム細胞増殖が誘導され、Thy-1腎炎ラットを作製できる。メサングウム融解は尿中のタンパク質やアルブミンにより検出することができる。

② Thy-1腎炎ラット腎臓分化cDNAライブラリーの調製とディファレンシャルハイブリダイゼーションによるライブラリーからのcDNAの選択

増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAとして、正常ラット腎臓と比較してThy-1腎炎ラット腎臓で発現量が上昇する遺伝子のcDNAを以下のようにして調製する。まず正常ラット腎臓mRNAを用いて分化を行ったThy-1腎炎ラット腎臓cDNAライブラリーを作製して腎炎関連遺伝子cDNAクローンを濃縮する。得られた分化cDNAライブラリー中のcDNAクローンについて、さらにThy-1腎炎ラット腎臓RNAと正常ラット腎臓RNAをそれぞれプローブとしたディファレンシャルハイブリダイゼーションを行ってThy-1腎炎ラット腎臓で発現量が上昇しているcDNAクローンを選択することによって該cDNAを得ることができる。

②-1 Thy-1腎炎ラット腎臓分化cDNAライブラリーの作製

分化とは、ある条件の組織や細胞から抽出したmRNAから1本鎖cDNAを作製して対照ラットの細胞のmRNAとハイブリダイズさせ、mRNAとハイブリダイズしたcDNAだけを除くことによって、対照ラットと比較して発現量の多い遺伝子のcDNAを選択する方法である。

分化cDNAライブラリーの作製法にはいくつかの方法があるが、本発明では、まず通常の方法でThy-1腎炎ラット腎臓cDNAライブラリーを作製し、ヘルパーファージを用いて1本鎖DNAに転換した後、分化を行う方法〔Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, 825 (1991)〕をとる。分化は、該cDNAとビオチン化した正常ラット腎臓mRNAとをハイブリダイズさせ、ハイブリダイズしたビオチン化mRNA-cDNA複合体にさらにストレプトアビジンを結合させた後、フェノール抽出により分離する方法を用いる。

②-1-A Thy-1腎炎ラット腎臓cDNAライブラリーの作製

Thy-1腎炎ラットの腎炎症状は、静脈注射後の日数によって異なり、腎炎症状の悪化から自然治癒の段階により発現する遺伝子が異なっていることが考えられるので、注射後2、4、6、8、10日目のラットからそれぞれ腎臓を摘出し、それぞれから個別にRNAを抽出する。RNAの抽出はチオシアン酸グアニ

ジントリフルオロ酢酸セシウム法 [Methods in Enzymol., 154, 3 (1987)] や酸性チオシアン酸グアニジン-フェノール-クロロホルム法 [Analytical Biochemistry, 162, 156 (1987)]、あるいはファスト・トラックmRNA単離キット [Fast Track mRNA Isolation Kit; インビトロジェン (Invitrogen) 社製] 等のキットを用いる方法で行うことができる。mRNAは一般に3'末端にポリAが付加しているので、オリゴdTセファロースを用いる方法 (モレキュラー・クロニング第2版) により、RNAからmRNAを精製することができる。

mRNAからcDNAライブラリーの作製は、ストラタジーン社のZAP-cDNA作製キットのマニュアルに記載の方法を参考にして、オリゴdTプライマーと逆転写酵素を利用して二本鎖cDNAを作製してクローニングベクターに挿入することによって作製できる。

クローニングベクターは、大腸菌 Escherichia coli 中で高いコピー数で複製可能で、アンピシリン耐性遺伝子やカナマイシン耐性遺伝子等の形質転換用のマーカー遺伝子を持ち、cDNAを挿入できるマルチクローニングサイトを持つという一般的なクローニングベクターとしての性質を持つ他、一本鎖DNAへの変換が簡単にできる必要がある。従ってクローニングベクターとしてはM13ファージの複製シグナルIG (intergenic space) を含むヘルパーファージの感染により一本鎖DNAファージに変換可能なプラスミドであるファージミドベクター例えばpBluescriptSK(-)、pBluescriptII KS(+)、pBS(-)、pBC(+)[以上いずれもストラタジーン(Stratagene)社製]、pUC118 (宝酒造社製) 等、あるいはヘルパーファージを利用したイン・ビボ・エクシジョン (in vivo excision) により、ファージミドに変換可能な入ファージベクター例えば入 ZAPII、ZAPExpress (両者ともストラタジーン社製) 等を用いる。イン・ビボ・エクシジョン、一本鎖DNAファージへの変換方法、および培養上清中のファージからの一本鎖DNAの精製方法はそれぞれの市販のベクターに添付するマニュアルに従って行うことができる。

cDNAを組み込んだベクターを導入する大腸菌としては、導入した遺伝子を発現できるものであればいずれも用いることができる。具体的には、Escherichia coli XL1-Blue MRF' [Stratagene 社製、Strategies, 5, 81 (1992)]、Escherichia coli C600 [Genetics, 39, 440 (1954)]、Escherichia coli Y1088 [Science, 222, 778 (1983)]、Escherichia coli Y1090 [Science, 222, 77

8 (1983)]、Escherichia coli NM522 [J. Mol. Biol., 166, 1 (1983)]、Escherichia coli K802 [J. Mol. Biol., 16, 118 (1966)]、Escherichia coli JM105 [Gene, 38, 275 (1985)] 等を用いることができる。

差別化にはcDNAと正常ラットのmRNAとのハイブリダイゼーションを用いることと、ファージミドからできる一本鎖DNAは、ファージミドの種類により二本鎖のうちのどちらの鎖ができるか決まっていることから、cDNAライブラリー作製に際しては、どのcDNAクローンからも一本鎖DNAとしてアンチセンス鎖（実際のmRNAとは相補的な塩基配列をもつ鎖）ができるようにcDNAの作製とベクターへの挿入方向を工夫する。例えば、ストラタジーン社のZAP cDNA合成キットのマニュアルに記載のように、逆転写酵素によるcDNA合成を5' 端にXho I サイトをもつオリゴdTプライマーと基質として5-メチル dCTP（合成後のcDNAの内部でXho I 切断できないようになる。）をdCTPの代わりに含むdNTPを用いて行い、合成されたcDNAの両端にEcoRI アダプターを付加した後にXho I で切断してベクターλ ZAPII のEcoRI /Xho I サイト間に挿入すれば、常にEcoRI サイト側がcDNAの5' 側でXho I サイト側がcDNAの3' 側になり、ベクターへの挿入方向が一定になる。このcDNAライブラリーをイン・ビボ・エクシジョンによりファージミドベクターpBluescript SK(-)をベクターとしたcDNAライブラリーに変換した後、ヘルパーファージを感染させると、cDNA部分がアンチセンス鎖になっている一本鎖DNAができることになる。

②-1-B 対照群ラット腎臓mRNAを用いた差別化

②-1-Aで調製したファージミドベクターのcDNAライブラリーについて、ヘルパーファージを感染させることにより、培養液中に一本鎖DNAファージを放出させ、この培養液から一本鎖DNAとなったcDNAを精製回収する。λファージベクターの場合はイン・ビボ・エクシジョンを行ってベクターをファージミドに変換した後に同様の操作を行う（モレキュラー・クローニング第2版）。

差別化の具体的操作、試薬の組成や反応条件はGenes to Cells, 3, 459 (1998)に記載された方法で行うことができる。②-1-Aで調製した対照群ラット腎臓mRNAを、フォトプローブビオチン〔ベクター・ラボラトリーズ (Vector Laboratories) 社製〕等を用いてビオチン化を行った後、上記の一本鎖Thy-

1 腎炎ラット腎臓 cDNA とハイブリダイズさせる。ハイブリダイズ後の溶液にビオチンと強固に結合するストレプトアビジンを反応させることにより、ビオチン化 mRNA とハイブリダイズした cDNA にさらにストレプトアビジンを結合させ疎水性を上昇させた後、フェノールを加えて抽出操作を行う。ハイブリダイズしなかった cDNA を水層から分取することができる。なおフェノール層にはビオチン化 mRNA とハイブリダイズした cDNA が抽出される。

②-1-C 逆差分化

②-1-B の差分化の操作では Thy-1 腎炎ラット腎臓で特異的に発現量が多い遺伝子の cDNA だけでなく、Thy-1 腎炎ラットと対照ラットの両者の腎臓で発現量が非常に低くクローン数も少ない cDNA、cDNA が挿入されなかったベクターのみのクローンも濃縮される傾向にあるが、そのような cDNA はこの発明の目的に合わない。したがって Thy-1 腎炎ラット腎臓である程度のクローン数のある cDNA を選択するため、差分化の後の cDNA とビオチン化した Thy-1 腎炎ラット腎臓 mRNA を差分化と同様のハイブリダイズと分離操作を行い、通常の差分化とは逆にビオチン化 mRNA とハイブリダイズを形成した cDNA をハイブリダイズしなかった cDNA から分離してフェノール層として分取する。分取後のハイブリダイズしたビオチン化 mRNA - cDNA を 95℃ で加熱した後、急冷することにより cDNA とビオチン化 mRNA に解離させた後、水を加えて抽出を行うことにより mRNA とハイブリダイズした cDNA を水層に分離することができる。

②-1-D 差分化後の cDNA ライブラリー化

②-1-B および ②-1-C の差分化および逆差分化操作後の cDNA について、ベクター部分の塩基配列と相補的な塩基配列をもつ適当なプライマーおよび BcaBEST (宝酒造社製)、Klenow 断片等の DNA ポリメラーゼを利用して二本鎖にした後、大腸菌に導入することにより、再度 cDNA ライブラリーとすることができる。大腸菌への導入方法は形質転換効率が高いエレクトロポレーション法が好ましい。

②-2 ディファレンシャルハイブリダイゼーション

②-1 で作製した差分化 cDNA ライブラリー中には、Thy-1 腎炎ラット腎臓で発現量が増加する増殖性糸球体腎炎関連遺伝子の cDNA が濃縮されているが、このライブラリーの中の全ての cDNA クローンが増殖性糸球体腎炎関連

遺伝子であるとは限らない。これらの中から増殖性糸球体腎炎関連遺伝子の cDNA を選択するには、それぞれの cDNA クローンをプローブにしたノーザン・ハイブリダイゼーション（モレキュラー・クローニング第 2 版）や cDNA クローンの塩基配列に基づいたプライマーを用いた RT-PCR [PCR Protocols, Academic Press (1990)] により正常ラット腎臓と Thy-1 腎炎ラット腎臓でのそれぞれの mRNA レベルを比較することにより、実際に Thy-1 腎炎ラット腎臓で発現量が増加する腎炎関連遺伝子の cDNA を選択することができる。また以下に示すディファレンシャルハイブリダイゼーションを行うことにより、発現量の増加している cDNA クローンを包括的かつ効率的に選択することができる。

まず②-1の方法で得られた差分化 cDNA ライブラリーを、個々のコロニーが分離できる程度の濃度に希釈して寒天培地上で培養し、分離したコロニーを個別に同一条件で液体培地中で培養する。この培養液を同一量ずつ、2枚のナイロンメンブレンに植菌し、メンブレンを寒天培地上にのせて同一条件で培養することにより2枚のメンブレン上にほぼ同じ量のコロニーを生育させる。したがってほぼ同一量のコロニー中のDNAがナイロンメンブレンにブロットされるので、モレキュラー・クローニング第2版に記載の方法でDNAの変性と中和を行った後、紫外線照射によりメンブレンに固定する。上記の操作では、寒天培地上の個々の分離したコロニーを96穴プレートに分離して培養し、Hydra 96 (Robbins Scientific 社製) 等の96穴プレートに対応した自動微量分注装置を使用してナイロンメンブレン上に植菌することが、多数のコロニーについて同じ量のDNAがブロットされた2枚の同一のメンブレンを容易に素早く調製でき、しかも元のコロニーとの対応も明瞭であるので、好ましい。このメンブレンについて1枚はThy-1腎炎ラット腎臓、もう1枚は対照ラット腎臓のそれぞれのmRNA全体をプローブにしてコロニーハイブリダイゼーションを行い、そのハイブリダイズシグナルの強弱を比較することにより、Thy-1腎炎ラット腎臓で発現量が上昇しているクローンを選択する。

プローブとしては、通常のDNAプローブと同様にmRNA全体に対し逆転写酵素とランダムプライマーを用いて作製した標識cDNAを用いることも可能だが、RNAプローブの方が、メンブレン上のDNAに対しDNAプローブより強固にハイブリダイズして強いシグナルを与えるため、望ましい。たとえば、mR

NAをT7、T3、SP6等のRNAポリメラーゼ特異的なプロモーター配列を5'端にもつオリゴdTプライマーおよび逆転写酵素を用いて、②-1-Aと同様な方法でcDNA合成反応を行うことにより、末端に該プロモーター配列をもつcDNAを合成する。このcDNAに対して標識用ヌクレオチドを基質にして該プロモーター配列に特異的なRNAポリメラーゼを作用させることにより、均一かつ高い標識率をもったRNAプローブを大量に合成することが容易にできる。プローブの標識には ^{32}P 、 ^{35}S などの放射性同位体あるいはジゴキシゲニン(digoxigenin: DIG)、ビオチン等の容易に検出ができる非放射性の物質が用いられる。

Thy-1腎炎ラット腎臓、および対照ラット腎臓それぞれのRNAプローブと上記で作製したメンブレンをハイブリダイズさせた後、各コロニーDNAとハイブリダイズしたプローブを検出する。ハイブリダイズしたプローブの検出には標識物質によりそれぞれ適した方法が用いられる。例えば、放射性同位元素の場合は直接X線フィルムあるいはイメージングプレートを感光させるオートラジオグラフィーにより、DIGの場合はDIGシステムユーザーガイド(ロシュ社製)に従いアルカリフォスファターゼ標識した抗DIG抗体を結合させた後、アルカリフォスファターゼにより発光するCSPD等の基質を反応させてX線フィルムを感光させる方法などが、感度良くまた定量的に検出する方法として用いられる。

もしThy-1腎炎ラットの腎臓で対照ラットの腎臓と比較して多く発現している遺伝子があれば、プローブ中に存在するその遺伝子のmRNA分子数も多くなるので、メンブレン上に同じ量のDNAがブロッティングされていたとしてもその遺伝子に対応するcDNAのスポットにはより多くのプローブが結合する。したがって、同じcDNAクローンのDNAがブロットされている2枚のメンブレン上のハイブリダイズシグナルの強度を比較することにより、Thy-1腎炎ラット腎臓で正常ラット腎臓と比べて発現量が上昇している遺伝子のcDNAを選択することができる。

③ DNAの塩基配列の解析

以上のようにして得られたThy-1腎炎ラット腎臓で正常ラット腎臓と比べて発現量が上昇している遺伝子のcDNAについて、その塩基配列をジデオキシ法[Sanger et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 74, 5463 (1977)]あるいは

はDNAシーケンサーを用いて決定できる。

このようにして得られたcDNAとして配列番号1、3、5、7、9、13、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142または157に示す塩基配列をもつDNAをあげることができる。

得られた塩基配列をアミノ酸配列に翻訳することにより、この遺伝子がコードするポリペプチドのアミノ酸配列を得ることができる。また、得られた塩基配列をGenBank、EMBL等の塩基配列データベース中の塩基配列とBLAST、FASTAなどの相同性解析プログラムを用いて比較することにより、得られた塩基配列が新規な塩基配列かどうか、また得られた塩基配列と相同性をもつ塩基配列を検索することができる。また塩基配列より得られたアミノ酸配列をSwissProt、PIR、GenPept等のアミノ酸配列データベースと比較することにより、その塩基配列がコードするポリペプチドと相同性をもつポリペプチド、例えばラットとは別の生物種での相当する遺伝子に由来するポリペプチドや同じような活性や機能をもつと推定されるファミリーポリペプチドを検索することができる。

④全長cDNAの調製

②で得られたcDNAには、mRNAが一部分解していたり逆転写酵素による合成がmRNAの3'側から5'側に向かう途中で止まってしまったことによりポリペプチドの全長をコードしない不完全なcDNAが含まれることがある。このような不完全なcDNAの塩基配列の解析では、そのcDNAがコードするポ

リペプチドのアミノ酸が全て明らかにはできない。塩基配列の解析において、相同性をもつ塩基配列やアミノ酸配列との比較の結果や、5. に記載するノーザン・ブロット法によるmRNAの長さと得られたcDNAの長さの比較などから、得られたcDNAが完全長でないことが推測される場合もある。このような不完全なcDNAだった場合、全長cDNAを以下のようにして得ることができる。

④-1 cDNAライブラリーからの再検索

得られた腎炎関連遺伝子cDNAをプローブにして、Thy-1腎炎ラット腎臓cDNAライブラリーからコロニーハイブリダイゼーションあるいはプラークハイブリダイゼーション（モレキュラー・クローニング第2版）により、ハイブリダイズするcDNAクローンを取得する。得られたクローンからモレキュラー・クローニング第2版に記載された方法によりDNAを調製し、制限酵素で切断することで最も長い挿入断片を持つものを選択する。Thy-1腎炎ラット腎臓cDNAライブラリーは、差別化cDNAライブラリーに対して再度行ってもよいが、差別化操作により、より長いcDNAを含むクローンが失われる傾向にあるので、差別化前のThy-1腎炎ラット腎臓cDNAライブラリーを用いる方が全長cDNAクローンが得られる可能性が高い。

④-2 cDNA両端の迅速増幅 (Rapid Amplification of cDNA Ends, RACE)

Thy-1腎炎ラット腎臓cDNAの両端にアダプターオリゴヌクレオチドを付加し、このアダプターの塩基配列と得られたcDNAクローンの塩基配列に基づいたプライマーでPCRを行う5'-RACEおよび3'-RACE〔Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 8998 (1988)〕により、②で得られたcDNAの5'末端および3'末端より外側のcDNA断片を得ることができる。得られたcDNAの塩基配列を③と同様にして決定する。この方法で得られたcDNAと②で得られたcDNAとをつなぎあわせることにより全長のcDNAを取得することもできる。

このようにして得られたラット増殖性糸球体腎炎関連遺伝子の全長cDNAとして配列番号1、3、5、7、9、13、17または157に示す塩基配列をもつラット増殖性糸球体腎炎関連遺伝子のcDNAをあげることができる。

④-3 データベース情報およびPCRの利用

③で決定したcDNAの塩基配列を塩基配列データベースと相同性解析を行な

った際に、既知の遺伝子の塩基配列とは一致が見られないが、ランダムな cDNA クローンの末端部分の塩基配列である EST (expressed sequence tag) と一致が見られる場合がある。この場合はこれらの EST および該 EST の塩基配列と一致する塩基配列をもつ EST、このような EST と同一クローン由来の EST を同一遺伝子由来の EST として集める。この同一遺伝子由来の EST の塩基配列をつなぎ合わせると、②で得られた cDNA よりも、5' 側あるいは 3' 側に延長した部分の塩基配列を見出せることがある。この場合、EST をつなぎ合わせて得られた塩基配列の最も 5' 端の塩基配列を有するフォワードプライマーあるいは 3' 端の塩基配列に相補的な塩基配列を有するリバースプライマーを用いて、Thy-1 腎炎ラット腎臓の cDNA、あるいは Thy-1 腎炎ラット腎臓 cDNA ライブラリーを鋳型にして PCR を行なうことにより、②で得られた cDNA の塩基配列の 5' 末端あるいは 3' 末端よりも外側の cDNA 部分を得ることができる。得られた cDNA は③と同様にして塩基配列を決定し、②で得られた cDNA とつなぎ合わせて全長の cDNA を取得することができる。目的の腎炎関連遺伝子に由来するラットの EST がデータベースより多数得られた場合は、RT-PCR を行なわなくても、集めた EST の塩基配列をつなぎ合わせるにより腎炎関連遺伝子の全長の cDNA の塩基配列を明らかにできることもある。

また、以上のようにして取得された全長 cDNA の塩基配列が明らかになった後は、該 cDNA の塩基配列に基づいたプライマーを調製し、Thy-1 腎炎ラット腎臓 cDNA あるいは cDNA ライブラリーを鋳型として、PCR を行うことにより全長 cDNA を取得することができる。また決定された腎炎関連遺伝子 cDNA の塩基配列に基づいて、DNA 合成機で腎炎関連遺伝子 DNA を化学合成することも可能である。合成機としては、フォスフォアミダイト法を利用したパーキン・エルマー社製の DNA 合成機 model 392 等をあげることができる。

⑤ ヒトにおける相当遺伝子の取得

増殖性糸球体腎炎関連遺伝子をヒトの増殖性糸球体腎炎の治療や診断に応用するためには、ヒト由来の遺伝子が必要である。一般に同じ機能をもつポリペプチドは種が異なってもアミノ酸配列に高い相同性があり、そのポリペプチドをコードしている遺伝子の塩基配列にも高い相同性がある傾向がある。したがってラットの cDNA をプローブにして、ヒトの腎臓、好ましくは増殖性糸球体腎炎患者

の腎臓のcDNAライブラリーからややストリンジェントな条件でハイブリダイゼーションによるスクリーニングを行うことによりヒトcDNAを取得することが可能である。ここでいうややストリンジェントな条件とは、ヒトcDNAとラットcDNAの相同性の程度によって異なるが、制限酵素切断したヒト染色体DNAに対してラットcDNAをプローブにして、度合いが異なるいくつかのハイブリダイズ条件でサザンブロットを行い、明確なバンドが見える条件のうち最もストリンジェントな条件を用いる。例えばホルムアミドを含まないハイブリダイズ液の場合、ハイブリダイズ液の組成は塩濃度を1mol/lに固定し、ハイブリダイズ温度を68℃～42℃で段階的に変えたいくつかの条件下でハイブリダイズを行い、ハイブリダイズと同じ温度で0.5% SDSを含む2×SSCで洗浄を行って条件を決める。ホルムアミドを含むハイブリダイズ液の場合、温度(42℃)と塩濃度(6×SSC)を固定し、ホルムアミド濃度を50%～0%で段階的に変えたいくつかの条件下でハイブリダイズを行い、50℃で0.5% SDSを含む6×SSCで洗浄を行って条件を決める。

また、②や④で得られたラットcDNAの塩基配列に対して③と同様にして塩基配列の新規性と相同性の検索を行い、ラットcDNAの塩基配列の中で特にポリペプチドをコードしている領域全体において高い(具体的には80%以上の)相同性を示すヒトのcDNAの塩基配列があるかどうかを検索する。高い相同性を示すヒトcDNAは、②や④で得られたラット遺伝子に相当するヒト遺伝子のcDNAと推定される。したがって、このヒトcDNAの5'および3'末端の塩基配列に対応するプライマーを用いて、ヒトの細胞や組織、好ましくは腎臓組織あるいは腎臓由来の細胞、さらに好ましくは増殖性糸球体腎炎患者の腎臓から抽出したRNAを鋳型にしてRT-PCRを行うことにより、このヒトcDNAを増幅、単離することができる。なお、ここでデータベース中に見出されるヒトcDNAが全長のものでなかったりESTの塩基配列だけの場合もあるが、このような場合も、ラットcDNAについて④に記載したのと同様な方法により全長のヒトcDNAを得ることができる。

また、このようにして得られたヒトcDNAは③と同様にして塩基配列を解析し、そのcDNAがコードするヒトポリペプチドのアミノ酸配列を明らかにすることができる。

このようにして得られる増殖性糸球体腎炎関連遺伝子のヒトcDNAとして

配列番号 1 1、1 5 および 1 5 9 に示す塩基配列を持つ c DNA をあげることができる。

さらに、他の非ヒトほ乳動物においても、同様の方法を用いて相当遺伝子を取得することができる。

⑥ ゲノム遺伝子の取得

モレキュラー・クローニング第 2 版に記載の方法により、ラットあるいはヒトの細胞や組織から単離した染色体 DNA を用いて作製したゲノム DNA ライブラリーに対して、②あるいは⑤で得られたラットあるいはヒト c DNA をプローブにして、プラークハイブリダイゼーション等の方法でスクリーニングすることにより、本発明の遺伝子のラットあるいはヒトのゲノム DNA を得ることができる。ゲノム DNA の塩基配列と c DNA の塩基配列を比較することにより該遺伝子のエキソン／イントロン構造を明らかにすることができる。また、特に c DNA の 5' 側の部分をプローブにすることにより、本発明の遺伝子のプロモーターなど転写を制御するゲノム遺伝子領域の塩基配列を明らかにすることができる。この配列は本発明の遺伝子の転写の制御機構を解析するのに役立つ。

同様の方法を用いて、他の非ヒトほ乳動物においても本発明のゲノム遺伝子を取得し、プロモーター領域などの塩基配列を明らかにすることができる。

⑦ オリゴヌクレオチドの調製

上述の方法で取得した本発明の DNA の塩基配列情報を用いて、DNA 合成機により、本発明の DNA の一部の配列を有するアンチセンス・オリゴヌクレオチド、センス・オリゴヌクレオチド等のオリゴヌクレオチドを調製することができる。

該オリゴヌクレオチドとしては、上記 DNA の有する塩基配列中の連続した 5 ～ 6 0 塩基と同じ配列を有する DNA または該 DNA と相補的な配列を有する DNA をあげることができ、具体的には、配列番号 1、3 および 5 に表される塩基配列中の連続した 5 ～ 6 0 塩基と同じ配列を有する DNA または該 DNA と相補的な配列を有する DNA をあげるすることができる。PCR のフォワードプライマーおよびリバースプライマーとして用いる場合には、両者の融解温度 (T_m) および塩基数が極端に変わることはないオリゴヌクレオチドで、5 ～ 6 0 塩基数のものが好ましい。

さらに、これらオリゴヌクレオチドの誘導體 (以下、オリゴヌクレオチド誘導

体という)も本発明のオリゴヌクレオチドとして利用することができる。

該オリゴヌクレオチド誘導体としては、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がホスフォロチオエート結合に変換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がN 3' - P 5' ホスフォアミデート結合に変換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のリボースとリン酸ジエステル結合がペプチド核酸結合に変換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC - 5 プロピニルウラシルで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC - 5 チアゾールウラシルで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のシトシンがC - 5 プロピニルシトシンで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のシトシンがフェノキサジン修飾シトシン (phenoxazine-modified cytosine) で置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、オリゴヌクレオチド中のリボースが2' - O - プロピルリボースで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体、あるいはオリゴヌクレオチド中のリボースが2' - メトキシエトキシリボースで置換されたオリゴヌクレオチド誘導体等をあげることができる〔細胞工学, 16, 1463 (1997)〕。

2 増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドの生産

以下に、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドの製造法について述べる。

完全長cDNAをもとに、必要に応じて、該ポリペプチドをコードする部分を含む適当な長さのDNA断片を調製する。

該DNA断片、あるいは完全長cDNAを発現ベクター内のプロモーターの下流に挿入することにより、該ポリペプチドを発現するの組換えベクターを造成する。

該組換えベクターを、該ベクターに適合した宿主細胞内に導入する。

宿主細胞としては、目的とするDNAを発現できるものは全て用いることができ、例えば、エシェリヒア (*Escherichia*) 属、セラチア (*Serratia*) 属、コリネバクテリウム (*Corynebacterium*) 属、ブレビバクテリウム (*Brevibacterium*) 属、シュードモナス (*Pseudomonas*) 属、バチルス (*Bacillus*) 属、マイクロバクテリウム (*Microbacterium*) 属等に属する細菌、クリュイペロミセス (*Kluyveromyces*) 属、サッカロミセス (*Saccharomyces*) 属、シゾサッカロミセス (*Shizosaccharomyces*) 属、トリコスポロン (*Trichosporon*) 属、シュワニオミセス (

Schwanniomyces) 属等に属する酵母や動物細胞、昆虫細胞等を用いることができる。

発現ベクターとしては、宿主細胞において自立複製可能ないしは染色体中への組込みが可能で、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAを転写できる位置にプロモーターを含有しているものが用いられる。

細菌を宿主細胞として用いる場合は、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNA組換えベクターは該細菌中で自立複製可能であると同時に、プロモーター、リボソーム結合配列、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAおよび転写終結配列より構成された組換えベクターであることが好ましい。ベクターにはプロモーターを制御する遺伝子が含まれていてもよい。

発現ベクターとしては、例えば、pBTrp2、pBTac1、pBTac2 (いずれもベーリンガーマンハイム社より市販)、pKK233-2 (Amersham Pharmacia Biotech 社製)、pSE280 (Invitrogen 社製)、pGEMEX-1 (Promega 社製)、pQE-8 (QIAGEN 社製)、pKYP10 [特開昭 58-110600]、pKYP200 [Agricultural Biological Chemistry, 48, 669 (1984)]、pLSA1 [Agric. Biol. Chem., 53, 277 (1989)]、pGEL1 [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 4306 (1985)]、pBluescript II SK(-) (Stratagene 社製)、pGEX (Amersham Pharmacia Biotech 社製)、pET-3 (Novagen 社製)、pTerm2 (USP4686191、USP4939094、USP5160735)、pSupex、pUB110、pTP5、pC194、pEG400 [J. Bacteriol., 172, 2392 (1990)] 等を例示することができる。

発現ベクターとしては、リボソーム結合配列であるシャイン・ダルガノ (Shine-Dalgarno) 配列と開始コドンとの間を適当な距離 (例えば 6 ~ 18 塩基) に調節したものをを用いることが好ましい。

プロモーターとしては、宿主細胞中で発現できるものであればいかなるものでもよい。例えば、trp プロモーター (P trp)、lac プロモーター (P lac)、P_L プロモーター、P_R プロモーター、T7 プロモーター等の大腸菌やファージ等に由来するプロモーター、SPO1 プロモーター、SPO2 プロモーター、pen P プロモーター等をあげることができる。また P trp を 2 つ直列させたプロモーター (P trp x 2)、tac プロモーター、letI プロモーター [Gene, 44, 29 (1986)]、lacT7 プロモーターのように人為的に設計改変されたプロモーター等も用いることができる。

本発明の増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAのポリペプチドをコードする部分の塩基配列を、宿主の発現に最適なコドンとなるように置換することにより、目的とするポリペプチドの生産率を向上させることができる。

本発明の増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAの発現には転写終結配列は必ずしも必要ではないが、好適には構造遺伝子直下に転写終結配列を配置することが望ましい。

宿主細胞としては、エシェリヒア属、セラチア属、コリネバクテリウム属、ブレヴィバクテリウム属、シュードモナス属、バチルス属等に属する微生物、例えば、Escherichia coli XL1-Blue、Escherichia coli XL2-Blue、Escherichia coli DH1、Escherichia coli MC1000、Escherichia coli KY3276、Escherichia coli W1485、Escherichia coli JM109、Escherichia coli HB101、Escherichia coli No. 49、Escherichia coli W3110、Escherichia coli NY49、Bacillus subtilis、Bacillus amyloliquefaciens、Brevibacterium ammoniagenes、Brevibacterium immariophilum ATCC14068、Brevibacterium saccharolyticum ATCC14066、Corynebacterium glutamicum ATCC13032、Corynebacterium glutamicum ATCC14067、Corynebacterium glutamicum ATCC13869、Corynebacterium acetoacidophilum ATCC13870、Microbacterium ammoniaphilum ATCC15354、Pseudomonas sp. D-0110等をあげることができる。

組換えベクターの導入方法としては、宿主細胞へDNAを導入する方法であればいずれも用いることができ、例えば、カルシウムイオンを用いる方法〔Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 69, 2110 (1972)〕、プロトプラスト法〔特開昭 63-248394〕、またはGene, 17, 107 (1982)やMolecular & General Genetics, 168, 111 (1979)に記載の方法等をあげることができる。

酵母を宿主細胞として用いる場合には、発現ベクターとして、例えば、YE p 13 (ATCC37115)、YE p 24 (ATCC37051)、YC p 50 (ATCC37419)、p HS 19、p HS 15等を例示することができる。

プロモーターとしては、酵母中で発現できるものであればいかなるものでもよく、例えば、PHO5プロモーター、PGKプロモーター、GAPプロモーター、ADHプロモーター、gal 1プロモーター、gal 10プロモーター、ヒートショックタンパク質プロモーター、MF α 1プロモーター、CUP 1プロモーター等をあげることができる。

宿主細胞としては、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*)、シゾサッカロミセス・ポンベ (*Schizosaccharomyces pombe*)、クリュイベロミセス・ラクチス (*Kluyveromyces lactis*)、トリコスポロン・プルランス (*Trichosporon pullulans*)、シュワニオミセス・アルビウス (*Schwanniomyces alluvius*) 等をあげることができる。

組換えベクターの導入方法としては、酵母にDNAを導入する方法であればいずれも用いることができ、例えば、エレクトロポレーション法 [Methods in Enzymol., 194, 182 (1990)]、スフェロプラスト法 [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 1929 (1978)]、酢酸リチウム法 [J. Bacteriol., 153, 163 (1983)]、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 1929 (1978)に記載の方法等をあげることができる。

動物細胞を宿主細胞として用いる場合には、発現ベクターとして、例えば、p cDNA I (Invitrogen 社製)、p cDM8 (Invitrogen 社製)、p AGE 107 [特開平 3-22979; Cytotechnology, 3, 133 (1990)]、p AS 3-3 (特開平 2-227075)、p CDM8 [Nature, 329, 840 (1987)]、p cDNA I / Amp (Invitrogen 社製)、p REP 4 (Invitrogen 社製)、p AGE 103 [J. Biochem., 101, 1307 (1987)]、p AGE 210等を例示することができる。

プロモーターとしては、動物細胞中で発現できるものであればいずれも用いることができ、例えば、サイトメガロウイルス (ヒトCMV) のIE (immediate early) 遺伝子のプロモーター、SV40の初期プロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネインプロモーター、ヒートショックタンパク質プロモーター、SR α プロモーター等をあげることができる。また、ヒトCMVのIE遺伝子のエンハンサーをプロモーターと共に用いてもよい。

宿主細胞としては、ヒトの細胞であるナマルバ (N a m a l w a) 細胞、サルの細胞であるCOS細胞、チャイニーズ・ハムスターの細胞であるCHO細胞、HB T 5 6 3 7 [特開昭 63-299] 等をあげることができる。

組換えベクターの導入法としては、動物細胞にDNAを導入できるいかなる方法も用いることができ、例えば、エレクトロポレーション法 [Cytotechnology, 3, 133 (1990)]、リン酸カルシウム法 (特開平 2-227075)、リポフェクション法 [Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 84, 7413 (1987)、Virology, 52, 456 (1973)] 等を用いることができる。形質転換体の取得および培養は、特開平 2-2

27075あるいは特開平2-257891に記載されている方法に準じて行なうことができる。

昆虫細胞を宿主として用いる場合には、例えばBaculovirus Expression Vectors, A Laboratory Manual, Oxford University Press (1994)、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー、Bio/Technology, 6, 47 (1988)等に記載された方法によって、ポリペプチドを発現することができる。

即ち、組換え遺伝子導入ベクターおよびバキュロウイルスを昆虫細胞に共導入して昆虫細胞培養上清中に組換えウイルスを得た後、さらに組換えウイルスを昆虫細胞に感染させ、ポリペプチドを発現させることができる。

遺伝子導入用ベクターとしては、例えば、pVL1392、pVL1393、pBlueBac III (ともにInvitrogen社製)等をあげることができる。

バキュロウイルスとしては、例えば、夜盗蛾科昆虫に感染するウイルスであるアウトグラフィ・カリフォルニカ・ヌクレアー・ポリヘドロシス・ウイルス(Autographa californica nuclear polyhedrosis virus)等を用いることができる。

昆虫細胞としては、Spodoptera frugiperdaの卵巣細胞であるSf9、Sf21 [Baculovirus Expression Vectors, A Laboratory Manual, W.H. Freeman and Company, New York, (1992)]、Trichoplusia niの卵巣細胞であるHigh 5 (Invitrogen社製)等を用いることができる。

組換えウイルスを調製するための、昆虫細胞への上記組換え遺伝子導入ベクターと上記バキュロウイルスの共導入方法としては、例えば、リン酸カルシウム法 [特開平2-227075]、リポフェクション法 [Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 84, 7413 (1987)]等をあげることができる。

遺伝子の発現方法としては、直接発現以外に、モレキュラー・クローニング第2版に記載されている方法等に準じて、分泌生産、融合ポリペプチド発現等を行うことができる。

酵母、動物細胞または昆虫細胞により発現させた場合には、糖あるいは糖鎖が付加されたポリペプチドを得ることができる。

増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAを組み込んだ組換えベクターを保有する形質転換体を培地に培養し、培養物中に増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを生成蓄積させ、該培養物より該ポリペプチドを採取することにより、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを製造することができる。

本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチド製造用の形質転換体を培地に培養する方法は、宿主細胞の培養に用いられる通常の方法に従って行うことができる。

本発明の形質転換体が大腸菌等の原核生物、酵母等の真核生物を宿主細胞とする場合、形質転換体を培養する培地は、該宿主細胞が資化し得る炭素源、窒素源、無機物等を含有し、形質転換体の培養を効率的に行える培地であれば天然培地、合成培地のいずれでもよい。

炭素源としては、それぞれの宿主細胞が資化し得るものであればよく、グルコース、フラクトース、スクロース、これらを含む糖蜜、デンプンあるいはデンプン加水分解物等の炭水化物、酢酸、プロピオン酸等の有機酸、エタノール、プロパノールなどのアルコール類を用いることができる。

窒素源としては、アンモニア、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、酢酸アンモニウム、リン酸アンモニウム等の各種無機酸若しくは有機酸のアンモニウム塩、その他含窒素化合物、並びに、ペプトン、肉エキス、酵母エキス、コーンステープリカー、カゼイン加水分解物、大豆粕および大豆粕加水分解物、各種発酵菌体およびその消化物等が用いられる。

無機物としては、リン酸第一カリウム、リン酸第二カリウム、リン酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸第一鉄、硫酸マンガン、硫酸銅、炭酸カルシウム等を用いることができる。

培養は、振盪培養または深部通気攪拌培養などの好氣的条件下で行う。培養温度は15～40℃がよく、培養時間は、通常16時間～7日間である。培養中pHは、3.0～9.0に保持する。pHの調整は、無機あるいは有機の酸、アルカリ溶液、尿素、炭酸カルシウム、アンモニアなどを用いて行う。

また培養中に必要に応じて、アンピシリンやテトラサイクリン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

プロモーターとして誘導性のプロモーターを有する組換えベクターを用いた形質転換体を培養するときには、必要に応じてインデューサーを培地に添加してもよい。例えば、lacプロモーターを有する組換えベクターを用いた形質転換体を培養するときにはイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド（IPTG）等を、trpプロモーターを有する組換えベクターを用いた形質転換体を培養するときにはインドールアクリル酸（IAA）等を培地に添加してもよい。

動物細胞を宿主細胞として得られた形質転換体を培養する培地としては、一般に使用されているRPMI 1640培地〔The Journal of the American Medical Association, 199, 519 (1967)〕、EagleのMEM培地〔Science, 122, 501 (1952)〕、ダルベッコ改変MEM培地〔Virology, 8, 396 (1959)〕、199培地〔Proceeding of the Society for the Biological Medicine, 73, 1 (1950)〕またはこれら培地に牛胎児血清等を添加した培地等を用いることができる。

培養は、通常pH 6～8、30～40℃、5%CO₂存在下等の条件下で1～7日間行う。

また、培養中必要に応じて、カナマイシン、ペニシリン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

昆虫細胞を宿主細胞として得られた形質転換体を培養する培地としては、一般に使用されているTNM-FH培地 (Pharmingen 社製)、Sf-900 II SFM 培地 (Life Technologies 社製)、ExCell400、ExCell405 (いずれも JRH Biosciences 社製)、Grace's Insect Medium [Grace, T.C.C., Nature, 195, 788 (1962)] 等を用いることができる。

培養は、通常pH 6～7、25～30℃等の条件下で、1～5日間行う。

また、培養中必要に応じて、ゲンタマイシン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

形質転換体の培養物から、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを単離精製するには、通常のポリペプチドの単離、精製法を用いればよい。

例えば、ポリペプチドが、細胞内に溶解状態で産生した場合には、培養終了後、細胞を遠心分離により回収し水系緩衝液にけん濁後、超音波破碎機、フレンチプレス、マントンガウリンホモゲナイザー、ダイノミル等により細胞を破碎し、無細胞抽出液を得る。該無細胞抽出液を遠心分離することにより得られた上清から、通常のポリペプチドの単離精製法、即ち、溶媒抽出法、硫酸等による塩析法、脱塩法、有機溶媒による沈殿法、ジエチルアミノエチル (DEAE) -セファロース、DIAION HPA-75 (三菱化学社製) 等レジンをを用いた陰イオン交換クロマトグラフィー法、S-Sepharose FF (Amersham Pharmacia Biotech 社製) 等のレジンをを用いた陽イオン交換クロマトグラフィー法、ブチルセファロース、フェニルセファロース等のレジンをを用いた疎水性クロマトグラフィー法、分子篩を用いたゲルろ過法、アフィニティークロマトグラフィー法、クロマトフォーカシング法

、等電点電気泳動等の電気泳動法等の手法を単独あるいは組み合わせて用い、ポリペプチドの精製標品を得ることができる。

また、ポリペプチドが細胞内に不溶体を形成して産生した場合は、細胞を回収後破碎し、遠心分離することにより、沈殿画分としてポリペプチドの不溶体を回収する。

回収したポリペプチドの不溶体をタンパク質変性剤で可溶化する。可溶化液を、希釈あるいは透析により、可溶化液中のタンパク質変性剤の濃度を下げることにより、ポリペプチドの構造を正常な立体構造に戻した後、上記と同様の単離精製法によりポリペプチドの精製標品を得る。

ポリペプチドあるいはその糖修飾体等が細胞外に分泌された場合には、培養上清から、該ポリペプチドあるいはその糖修飾体等を回収することができる。即ち、培養物から遠心分離等の手法により培養上清を回収し、該培養上清から、上記と同様の単離精製法を用いることにより、精製標品を得ることができる。

このようにして取得されるポリペプチドとして、例えば、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、158 または 160 に表されるアミノ酸配列を有するポリペプチド等をあげることができる。

また、本発明のポリペプチドを、Fmoc 法(フルオレニルメチルオキシカルボニル法)、tBoc 法(t-ブチルオキシカルボニル法)等の化学合成法によっても製造することができる。また、米国 Advanced ChemTech 社製、Perkin-Elmer 社製、Amersham Pharmacia Biotech 社製、米国 Protein Technology Instrument 社製、米国 Synthecell-Vega 社製、米国 PerSeptive 社製、島津製作所社製等のペプチド合成機を利用し合成することもできる。

3 増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを特異的に認識する抗体の調製

増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドの全長または部分断片精製標品、あるいは KRGF-1 蛋白質の一部のアミノ酸配列を有する合成ペプチドを抗原として用いることにより、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体等、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを認識する抗体を作製することができる。

(1) ポリクローナル抗体の作製

本発明の蛋白質の全長または部分断片精製標品、あるいは本発明の蛋白質の一部のアミノ酸配列を有するペプチドを抗原として用い、適当なアジュバント〔例えば、フロイントの完全アジュバント (Complete Freund's Adjuvant) または水

酸化アルミニウムゲル、百日咳ワクチンなど]とともに、動物の皮下、静脈内または腹腔内に投与することによりポリクローナル抗体を作製することができる。

投与する動物として、ウサギ、ヤギ、ラット、マウス、ハムスター等を用いることができる。

該抗原の投与量は動物1匹当たり50～100 μ gが好ましい。

ペプチドを用いる場合は、ペプチドをスカシガイヘモシアニン (keyhole limpet haemocyanin) や牛チログロブリンなどのキャリア蛋白に共有結合させたものを抗原とするのが望ましい。抗原とするペプチドは、ペプチド合成機で合成することができる。

該抗原の投与は、1回目の投与の後1～2週間おきに3～10回行う。各投与後、3～7日目に眼底静脈叢より採血し、該血清が免疫に用いた抗原と反応することを酵素免疫測定法〔酵素免疫測定法 (ELISA法) : 医学書院刊 (1976年)、Antibodies-A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)〕等で確認する。

免疫に用いた抗原に対し、その血清が十分な抗体価を示した非ヒト哺乳動物より血清を取得し、該血清を分離、精製することによりポリクローナル抗体を取得することができる。

分離、精製する方法としては、遠心分離、40～50%飽和硫酸アンモニウムによる塩析、カプリル酸沈殿 [Antibodies, A Laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory, (1988)]、またはDEAE-セファロースカラム、陰イオン交換カラム、プロテインAまたはG-カラムあるいはゲル濾過カラム等を用いるクロマトグラフィー等を、単独または組み合わせて処理する方法があげられる。

(2) モノクローナル抗体の作製

(a) 抗体産生細胞の調製

免疫に用いた本発明の蛋白質の部分断片ポリペプチドに対し、その血清が十分な抗体価を示したラットを抗体産生細胞の供給源として供する。

該抗体価を示したラットに抗原物質を最終投与した後3～7日目に、脾臓を摘出する。

該脾臓をMEM培地 (日水製薬社製) 中で細断し、ピンセットでほぐし、1, 200 rpmで5分間遠心分離した後、上清を捨てる。

得られた沈殿画分の脾細胞をトリス-塩化アンモニウム緩衝液 (pH 7.65) で1~2分間処理し赤血球を除去した後、MEM培地で3回洗浄し、得られた脾細胞を抗体産生細胞として用いる。

(b) 骨髓腫細胞の調製

骨髓腫細胞としては、マウスまたはラットから取得した株化細胞を使用する。例えば、8-アザグアニン耐性マウス (BALB/c 由来) 骨髓腫細胞株 P3-X63Ag8-U1 (以下、P3-U1 と略す) [Curr. Topics. Microbiol. Immunol., 81, 1 (1978)、Europ. J. Immunol., 6, 511 (1976)]、SP2/0-Ag14 (SP-2) [Nature, 276, 269 (1978)]、P3-X63-Ag8653 (653) [J. Immunol., 123, 1548 (1979)]、P3-X63-Ag8 (X63) [Nature, 256, 495 (1975)] 等を用いることができる。これらの細胞株は、8-アザグアニン培地 [RPMI-1640 培地にグルタミン (1.5 mmol/l)、2-メルカプトエタノール (5×10^{-5} mol/l)、ジェンタマイシン ($10 \mu\text{g}/\text{ml}$) および牛胎児血清 (FCS) (CSL社製、10%) を加えた培地 (以下、正常培地という) に、さらに8-アザグアニン ($15 \mu\text{g}/\text{ml}$) を加えた培地で継代するが、細胞融合の3~4日前に正常培地で培養し、融合には該細胞を 2×10^7 個以上用いる。

(c) ハイブリドーマの作製

(a) で取得した抗体産生細胞と (b) で取得した骨髓腫細胞を MEM 培地または PBS (リン酸二ナトリウム 1.83 g、リン酸一カリウム 0.21 g、食塩 7.65 g、蒸留水 1 リットル、pH 7.2) でよく洗浄し、細胞数が、抗体産生細胞 : 骨髓腫細胞 = 5~10 : 1 になるよう混合し、1,200 rpm で5分間遠心分離した後、上清を捨てる。

得られた沈殿画分の細胞群をよくほぐし、該細胞群に、攪拌しながら、37℃で、 10^8 抗体産生細胞あたり、ポリエチレングライコール-1000 (PEG-1000) 2 g、MEM 2 ml およびジメチルスルホキシド (DMSO) 0.7 ml を混合した溶液を 0.2~1 ml 添加し、さらに1~2分間毎に MEM 培地 1~2 ml を数回添加する。

添加後、MEM 培地を加えて全量が 50 ml になるように調製する。該調製液を 900 rpm で5分間遠心分離後、上清を捨てる。得られた沈殿画分の細胞を、ゆるやかにほぐした後、メスピペットによる吸込み、吹出しでゆるやかに HAT 培地 [正常培地にヒポキサンチン (10^{-4} mol/l)、チミジン (1.5×10^{-5}

mol/l) およびアミノプテリン (4×10^{-7} mol/l) を加えた培地] 100 ml 中に懸濁する。

該懸濁液を96穴培養用プレートに100 μ l/穴ずつ分注し、5% CO₂ インキュベーター中、37℃で7～14日間培養する。

培養後、培養上清の一部をとりアンチボディーズ [Antibodies, A Laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Chapter 14 (1988)] 等に述べられている酵素免疫測定法により、本発明の蛋白質の部分断片ポリペプチドに特異的に反応するハイブリドーマを選択する。

酵素免疫測定法の実例として、以下の方法をあげることができる。

免疫の際、抗原に用いた本発明の蛋白質の部分断片ポリペプチドを適当なプレートにコートし、ハイブリドーマ培養上清もしくは後述の(d)で得られる精製抗体を第一抗体として反応させ、さらに第二抗体としてビオチン、酵素、化学発光物質あるいは放射線化合物等で標識した抗ラットまたは抗マウスイムノグロブリン抗体を反応させた後に標識物質に応じた反応を行い、本発明の蛋白質に特異的に反応するものを本発明のモノクローナル抗体を生産するハイブリドーマとして選択する。

該ハイブリドーマを用いて、限界希釈法によりクローニングを2回繰り返し〔1回目は、HT培地 (HAT培地からアミノプテリンを除いた培地)、2回目は、正常培地を使用する〕、安定して強い抗体価の認められたものを本発明のモノクローナル抗体を生産するハイブリドーマ株として選択する。

(d) モノクローナル抗体の調製

プリスタン処理〔2, 6, 10, 14-テトラメチルペンタデカン (Pristan) 0.5 ml を腹腔内投与し、2週間飼育する〕した8～10週令のマウスまたはヌードマウスに、(c)で取得した本発明のポリペプチドモノクローナル抗体産生ハイブリドーマ細胞 $5 \sim 20 \times 10^6$ 細胞/匹を腹腔内に注射する。10～21日間でハイブリドーマは腹水癌化する。

該腹水癌化したマウスから腹水を採取し、3,000 rpmで5分間遠心分離して固形分を除去する。

得られた上清より、ポリクローナルで用いた方法と同様の方法でモノクローナル抗体を精製、取得することができる。

抗体のサブクラスの決定は、マウスモノクローナル抗体タイピングキットまた

はラットモノクローナル抗体タイピングキットを用いて行う。ポリペプチド量は、ローリー法あるいは280nmでの吸光度より算出する。

4 増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを生産する組換えウイルスベクターの調製法

以下に、本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを特定のヒト組織内で生産するための組換えウイルスベクターの調製法について述べる。

増殖性糸球体腎炎関連遺伝子の完全長cDNAをもとに、必要に応じて、該ポリペプチドをコードする部分を含む適当な長さのDNA断片を調製する。

該DNA断片、あるいは完全長cDNAをウイルスベクター内のプロモーターの下流に挿入することにより、組換えウイルスベクターを造成する。

RNAウイルスベクターの場合には、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子の完全長cDNAに相同なcRNA、若しくは該ポリペプチドをコードする部分を含む適当な長さのDNA断片に相同なRNA断片を調整し、それらを、ウイルスベクター内のプロモーターの下流に挿入することにより、組換えウイルスを造成する。RNA断片は、2本鎖の他、ウイルスベクターの種類に応じて、センス鎖若しくはアンチセンス鎖のどちらか一方の1本鎖を選択する。例えば、レトロウイルスベクターの場合は、センス鎖に相同するRNAを、センダイウイルスベクターの場合は、逆にアンチセンス鎖に相同なRNAを選択する。

該組換えウイルスベクターを、該ベクターに適合したパッケージング細胞に導入する。

パッケージング細胞はウイルスのパッケージングに必要なポリペプチドをコードする遺伝子の少なくとも1つを欠損している組換えウイルスベクターの該欠損するポリペプチドを補給できる細胞は全て用いることができ、例えばヒト腎臓由来のHEK293細胞、マウス繊維芽細胞NIH3T3などを用いることができる。パッケージング細胞で補給するポリペプチドとしては、レトロウイルスベクターの場合はマウスレトロウイルス由来のgag、pol、envなどのポリペプチドが、レンチウイルスベクターの場合はHIVウイルス由来のgag、pol、env、vpr、vpu、vif、tat、rev、nefなどのポリペプチド、アデノウイルスベクターの場合はアデノウイルス由来のE1A・E1Bなどのポリペプチドが、アデノ随伴ウイルスの場合はRep(p5、p19、p40)、Vp(Cap)などのポリペプチドが、センダイウイルスの場合はNP、

P/C、L、M、F、HNなどのポリペプチドがあげられる。

ウイルスベクターとしては上記パッケージング細胞において組換えウイルスが生産でき、標的細胞で増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAを転写できる位置にプロモーターを含有しているものが用いられる。プラスミドベクターとしてはMFG [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92, 6733-6737 (1995)]、pBabePuro [Nucleic Acids Res., 18, 3587-3596 (1990)]、LL-CG、CL-CG、CS-CG、CLG [Journal of Virology, 72, 8150-8157 (1998)]、pAdex1 [Nucleic Acids Res., 23, 3816-3821 (1995)]等が用いられる。プロモーターとしては、ヒト組織中で発現できるものであればいずれも用いることができ、例えば、サイトメガロウイルス（ヒトCMV）のIE（immediate early）遺伝子のプロモーター、SV40の初期プロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネインプロモーター、ヒートショックタンパク質プロモーター、SR α プロモーター等をあげることができる。また、ヒトCMVのIE遺伝子のエンハンサーをプロモーターと共に用いてもよい。

パッケージング細胞への組換えウイルスベクターの導入法としては、例えば、リン酸カルシウム法〔特開平 2-227075〕、リポフェクション法 [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 7413 (1987)]等をあげることができる。

5 増殖性糸球体腎炎関連遺伝子のmRNAを検出する方法

以下に本発明の増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAを用いて、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAを検出する方法について述べる。

当該方法に用いられるDNAとしては、例えば配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、12

5、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157または159に表される塩基配列を有するDNA等があげられる。

増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAの発現量や構造変化を検出する方法としては、例えば（１）ノーザンブロット法（２）in situ ハイブリダイゼーション法、（３）定量的PCR法、（４）ディファレンシャル・ハイブリダイゼーション法、（５）DNAチップ法、（６）RNase 保護アッセイ法などの方法等があげられる。

上記方法による分析に供する検体としては、腎疾患患者ならびに健常者より取得した腎臓組織、血清、唾液等の生体試料、あるいは該生体試料から細胞を取得して試験管内の適当な培地中で培養した初代培養細胞試料から取得したmRNAあるいは全RNAが用いられる（以後、該mRNAおよび全RNAを検体由来RNAと称する）。また、生体試料から取得した組織を、パラフィンあるいはクリオスタット切片として単離したものをを用いることもできる。

ノーザンブロット法では、検体由来RNAをゲル電気泳動で分離後、ナイロンフィルター等の支持体に転写し、本発明のDNAより調製した標識プローブを用いて、ハイブリダイゼーションならびに洗浄を行うことで、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAに特異的に結合したバンドを検出することにより、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAの発現量ならびに構造の変化を検出することができる。ハイブリダイゼーションを行う際には、プローブと検体由来RNA中の増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAが安定なハイブリッドを形成する条件でインキュベーションする。偽陽性を防ぐためには、ハイブリダイゼーションならびに洗浄工程は高ストリンジェントな条件で行うことが望ましい。この条件は、温度、イオン強度、塩基組成、プローブの長さ、およびホルムアミド濃度等の多数の因子により決定される。これらの因子は、例えば、モレキュラー・クローニング第2版に記載されている。

ノーザンブロット法に用いる標識プローブは、例えば、公知の方法（ニック・トランスレーション、ランダム・プライミングまたはキナーゼ）により放射性同位体、ビオチン、蛍光基、化学発光基等を、本発明のDNAあるいは該DNAの配列から設計したオリゴヌクレオチドに取り込ませることで調製できる。標識プローブの結合量は増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAの発現量を反映する

ことから、結合した標識プローブの量を定量することで増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAの発現量を定量することができる。また、標識プローブ結合部位を分析することで、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAの構造変化を知ることができる。

上記標識プローブおよび、生体から取得した組織をパラフィンあるいはクリオスタット切片として単離したものをを用いてハイブリダイゼーションならびに洗浄の工程を行う *in situ* ハイブリダイゼーション法によって、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAの発現量を検出することができる。*in situ* ハイブリダイゼーション法で、偽陽性を防ぐためには、ハイブリダイゼーションならびに洗浄工程は高ストリンジェントな条件で行うことが望ましい。この条件は、温度、イオン強度、塩基組成、プローブの長さ、およびホルムアミド濃度等の多数の因子により決定される。これらの因子は、例えばカレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジーに記載されている。

定量的PCR法やディファレンシャル・ハイブリダイゼーション法あるいはDNAチップ法等による増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAの検出法は、検体由来RNA、オリゴdTプライマーまたはランダムプライマーおよび逆転写酵素を用いてcDNAを合成することに基づいた方法で行うことができる（以後、該cDNAを検体由来cDNAと称する）。検体由来RNAがmRNAの場合は、上記いずれのプライマーも用いることができるが、該検体由来RNAが全RNAである場合は、オリゴdTプライマーを用いることが必要である。

定量的PCR法では、検体由来cDNAをテンプレートとし本発明の増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAが有する塩基配列に基づき設計したプライマーを用いてPCRを行うことで、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNA由来のDNA断片が増幅される。該増幅DNA断片の量は増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAの発現量を反映することから、アクチンやG3PDH(glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase)等をコードするDNAを内部コントロールとして置くことで増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAの量を定量することが可能である。また、該増幅DNA断片をゲル電気泳動により分離することで、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAの構造の変化を知ることができる。本検出法では、標的配列を特異的にかつ効率的に増幅する適当なプライマーを用いることが望ましい。適当なプライマーは、プライマー間の結合やプライマー内の結合を起こさず、アニーリン

グ温度で標的 cDNA と特異的に結合して、変性条件で標的 cDNA からはずれる等の条件に基づき設計することができる。増幅 DNA 断片の定量は増幅産物が指数関数的に増加している PCR 反応の内に行うことが必要である。このような PCR 反応は、各反応ごとに生産される該増幅 DNA 断片を回収してゲル電気泳動で定量分析することで知ることができる。

検体由来 cDNA をプローブとして、本発明の DNA を固定化させたフィルターあるいはスライドガラスやシリコンなどの基盤に対してハイブリダイゼーションならびに洗浄を行うことで、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子 mRNA の発現量の変動を検出することができる。このような原理に基づく方法には、ディファレンシャル・ハイブリダイゼーション法 [Trends in Genetics, 7, 314-317 (1991)] や DNA チップ法 [Genome Research, 6, 639-645 (1996)] と呼ばれる方法がある。いずれの方法もフィルターあるいは基盤上にアクチンや G3PDH などの内部コントロールを固定化することで、対照検体と標的検体の間での増殖性糸球体腎炎関連遺伝子 mRNA の発現の違いを正確に検出することができる。また対照検体と標的検体由来の RNA をもとにそれぞれ異なる標識 dNTP を用いて標識 cDNA 合成を行い、1枚のフィルターあるいは1枚の基盤に二つの標識 cDNA プローブを同時にハイブリダイズさせることで正確な増殖性糸球体腎炎関連遺伝子 mRNA の発現量の定量を行うことができる。

RNAse 保護アッセイ法では、まず本発明の DNA の 3' 端に T7 プロモーター、SP6 プロモーターなどのプロモーター配列を結合し、RNA ポリメラーゼを用いた in vitro の転写系により標識した rNTP を用いて、標識したアンチセンス RNA を合成する。該標識アンチセンス RNA は、検体由来 RNA と結合させて、RNA-RNA ハイブリッドを形成させた後、RNAse で消化し、消化から保護された RNA 断片をゲル電気泳動によりバンドを形成させ検出する。得られたバンドを定量することで、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子 mRNA の発現量を定量することができる。

6 腎疾患の原因遺伝子を検出する方法

以下に本発明の増殖性糸球体腎炎関連遺伝子 DNA を用いて腎疾患の原因遺伝子を検出する方法について述べる。

当該方法に用いられる DNA としては、例えば配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、

26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、
38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、
50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、
62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、
74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、
86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、
98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、
108、109、110、111、112、113、114、115、116、
117、118、119、120、121、122、123、124、125、
126、127、128、129、130、131、132、133、134、
135、136、137、138、139、140、141、142、157
または159に表される塩基配列を有するDNA等があげられる。

増殖性糸球体腎炎関連遺伝子座中に存在する腎疾患の原因となる変異の存在の有無を評価するための最も明確な試験は、対照集団からの遺伝子と腎疾患患者からの遺伝子とを直接比較することである。

具体的には腎疾患患者ならび健常者から、腎臓組織、血清、唾液等のヒト生体試料あるいは、該生体試料から樹立した初代培養細胞由来の試料を集め、該生体試料ならびに該初代培養細胞由来試料中からDNAを抽出する（以後、該DNAを検体由来DNAと称する）。該検体由来DNAあるいは、本発明のDNAが有する塩基配列に基づき設計したプライマーを用いて増幅した増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAを試料DNAとして用いることができる。別法として、該検体由来cDNAをテンプレートとして、本発明のDNAが有する塩基配列に基づき設計したプライマーによりPCRを行うことで増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNA配列を含むDNA断片を増幅して試料DNAとして用いることができる。

増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAに腎疾患の原因となる変異があるかどうかを検出する方法として、野生型対立遺伝子を有するDNA鎖と変異対立遺伝子を有するDNA鎖とのハイブリダイズにより形成されるヘテロ二本鎖を検出する方法を用いることができる。

ヘテロ二本鎖を検出する方法には、（1）ポリアクリルアミドゲル電気泳動によるヘテロ二本鎖検出法〔Trends Genet., 7, 5（1991）〕、（2）一本鎖コンフォメーション多型解析法〔Genomics, 16, 325-332（1993）〕、（3）ミスマッチ

の化学的切断法 (CCM: chemical cleavage of mismatches) [Human Molecular Genetics(1996), Tom Strachan and Andrew P. Read (BIOS Scientific Publishers Limited)]、(4) ミスマッチの酵素的切断法 [Nature Genetics, 9, 103-104 (1996)]、(5) 変性ゲル電気泳動法 [Mutat. Res., 288, 103-112 (1993)] 等の方法があげられる。

検体由来DNAあるいは検体由来cDNAをテンプレートに、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAを配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157または159に記載の塩基配列に基づき設計したプライマーにより、200bpよりも小さい断片として増幅し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行う。増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAの変異によりヘテロ二本鎖が形成された場合は、変異を持たないホモ二本鎖よりも移動度が遅く、それらは余分なバンドとして検出することができる。特製のゲル (Hydro-link, MDEなど) を用いた方が分離度はよい。200bpよりも小さい断片の検索ならば、挿入、欠失、ほとんどの1塩基置換を検出可能である。ヘテロ二本鎖解析は、次に述べる一本鎖コンフォメーション多型解析と組み合わせた1枚のゲルで行うことが望ましい。

一本鎖コンフォメーション多型解析 (SSCP解析: single strand conformation polymorphism analysis) では、検体由来DNAあるいは検体由来cDNAをテンプレートに、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、3

0、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157または159記載の塩基配列に基づき設計したプライマーにより、200bpよりも小さい断片として増幅した増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAを変性後、未変性ポリアクリルアミドゲル中で泳動する。DNA増幅を行う際にプライマーを放射性同位体あるいは蛍光色素で標識するか、または未標識の増幅産物を銀染色することにより、増幅した増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAをバンドとして検出することができる。野生型のパターンとの相違を明らかにするために、コントロールの検体も同時に泳動すると、変異を持った断片を移動度の違いから検出できる。

ミスマッチの化学的切断法（CCM法）では、検体由来DNAあるいは検体由来cDNAをテンプレートに、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAを配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、1

32、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157または159に記載の塩基配列に基づき設計したプライマーで増幅したDNA断片を、本発明のDNAに放射性同位体あるいは蛍光色素をとり込ませた標識DNAとハイブリダイズさせ、四酸化オスミウムで処理することでミスマッチしている場所のDNAの一方の鎖を切断させ変異を検出することができる。CCM法は最も感度の高い検出法の1つであり、キロベースの長さの検体にも適応できる。

上記四酸化オスミウムの代わりにT4ファージリゾルベースとエンドヌクレアーゼVIIのような細胞内でミスマッチの修復に関与する酵素とRNaseAと組み合わせることで、酵素的にミスマッチを切断することもできる。

変性ゲル電気泳動法（denaturing gradient gel electrophoresis：DGGE法）では、検体由来DNAあるいは検体由来cDNAをテンプレートに、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAを配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157または159に記載の塩基配列に基づき設計したプライマーで増幅したDNA断片を化学的変性剤の濃度勾配や温度勾配を有するゲルを用いて電気泳動する。増幅したDNA断片はゲル内を一本鎖に変性する位置まで移動し、変性後は移動しなくなる。増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAに変異がある場合とない場合では増幅したDNAのゲル内での移動度が異なることから、変異の存在を検出することが可能である。検出感度を上げるにはそれぞれのプライマーにポリ（G：C）末端を付けるとよ

い。

腎疾患の原因遺伝子を検出する別の方法として、タンパク質短縮試験 (protein truncation test: PTT法) [Genomics, 20, 1-4 (1994)] がある。該試験によりポリペプチドの欠損を生み出すフレームシフト突然変異、スプライス部位突然変異、ナンセンス突然変異を特異的に検出することができる。PTT法では、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157または159に表された塩基配列を有するDNAの5'末端にT7プロモーター配列と真核生物翻訳開始配列をつないだ特殊なプライマーを設計し、該プライマーを用いて検体由来RNAより逆転写PCR (RT-PCR) 法でcDNAを作成する。該cDNAを用い、in vitro 転写、翻訳を行うと、ポリペプチドが生産される。該ポリペプチドをゲルに泳動して、該ポリペプチドの泳動位置が完全長ポリペプチドに相当する位置にあれば欠損を生み出す変異は存在せず、該ポリペプチドに欠損がある場合は、完全長ポリペプチドより短い位置に該ポリペプチドは泳動され、該位置より欠損の程度を知ることができる。

検体由来DNAならびに検体由来cDNAの塩基配列を決定するために本発明のDNAが有する塩基配列に基づいて設計したプライマーを用いることが可能である。決定された塩基配列を解析することにより、検体由来DNAあるいは検体由来cDNAに腎疾患の原因となる変異があるか否かを判別できる。

増殖性糸球体腎炎関連遺伝子のコード領域以外の変異は、該遺伝子の付近また

はその中のイントロンおよび調節配列のような、非コード領域を検査することによって検出し得る。非コード領域中の変異に起因する腎疾患は、上記に記載した方法に従い対照検体と比較した場合の、腎疾患患者における異常なサイズの、または異常な生産量のmRNAを検出することで確認することができる。

このようにして非コード領域における変異の存在が示唆された該遺伝子については、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157または159に記載の塩基配列を有するDNAをハイブリダイゼーションのプロープとして用いることにより、クローン化することができる。非コード領域における変異は上述のいずれかの方法に準じて探索することができる。

見い出された変異は、Handbook of Human Genetics Linkage. The John Hopkins University Press, Baltimore (1994)に記載された方法に従い統計処理を行うことで、腎疾患との連鎖があるSNPs (シングル・ヌクレオチド・ポリモルフィズム) として同定することができる。また、腎疾患の病歴を持つ家族から、先に示した方法に従いDNAを取得し、変異を検出することで、腎疾患の原因遺伝子を同定することができる。

7 増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAを用いて腎疾患の発生の可能性および予後を診断する方法

当該方法に用いられるDNAとしては、例えば配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、

26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、
38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、
50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、
62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、
74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、
86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、
98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、
108、109、110、111、112、113、114、115、116、
117、118、119、120、121、122、123、124、125、
126、127、128、129、130、131、132、133、134、
135、136、137、138、139、140、141、142、157
または159に表される塩基配列を有するDNAもしくはそれらから得られるDNA断片等があげられる。

腎疾患の原因は、ヒトのいずれかの組織における遺伝子の変異を検出することによって確認し得る。例えば、生殖細胞系に変異がある場合、当該変異を遺伝した個人は、腎疾患を発症し易い傾向である可能性がある。当該変異は、該個人の体のいずれかの組織からのDNAを試験することによって検出し得る。例えば、採血しその血液の細胞からDNAを抽出し、このDNAを用い、遺伝子の変異を試験することにより、腎疾患を診断することができる。また、胎児細胞、胎盤細胞または羊膜細胞を用い、遺伝子の変異を試験することにより、出生前診断を行うことができる。

また腎疾患を発症した患者から、病巣部位の生体組織を取得してDNAを試験することにより、腎疾患の種類を診断し、投与する薬物の選択などに利用することができる。組織中の遺伝子の変異を検出するためには、周囲の正常組織から遊離した病巣部位の組織を単離することが有用である。腎疾患患者の腎臓はバイオプシーにより摘出することができる。このようにして取得した組織をトリプシンなどで処理し、得られた細胞を適当な培地で培養する。培養した細胞からは染色体DNAならびにmRNAを抽出することができる。

以後、診断を目的としてヒト検体から上記いずれかの方法で取得したDNAを診断検体由来DNAと称する。また、診断を目的としてヒト検体から上記いずれかの方法で取得したRNAより合成したcDNAを診断検体由来cDNAと称す

る。

増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAおよび診断検体由来DNAあるいは診断検体由来cDNAを用い、上記腎疾患の原因遺伝子を検出する方法に準じた方法により、腎疾患の診断を行うことができる。

また、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAおよび診断検体由来DNAあるいは診断検体由来cDNAを利用した腎疾患の診断には（１）制限酵素部位の検出、（２）対立遺伝子特異的なオリゴヌクレオチドプローブを利用する方法（ASO : allele specific oligonucleotide hybridization）、（３）対立遺伝子特異的なオリゴヌクレオチドを用いたPCR（ARMS : amplification refractory mutation system）、（４）オリゴヌクレオチドライゲーションアッセイ（OLA : oligonucleotide ligation assay）、（５）PCR-PHFA法（PCR-preferential homoduplex formation assay）、（６）オリゴDNAアレイを用いる方法〔タンパク質核酸酵素、43, 2004-2011 (1998)]等の方法も用いることができる。

単一塩基変化により制限酵素部位が消失あるいは発生する場合は、診断検体由来DNAあるいは診断検体由来cDNAを、本発明のDNAが有する配列に基づき設計したプライマーで増幅し、該制限酵素で消化し、得られた制限酵素切断DNA断片を正常人の場合と比較することで簡便に変異を検出することができる。しかし単一塩基変化が起こることはまれであるので、診断目的には、本発明のDNAが有する配列情報ならびに別途同定された変異の情報を組合せることでオリゴヌクレオチドプローブを設計し、該オリゴヌクレオチドプローブをフィルターに結合させハイブリダイズを行うリバーズドットプロット法で変異を検出する。

短い合成DNAプローブは、完全に対合する配列とだけハイブリダイズする。この特徴を利用して、対立遺伝子特異的なオリゴヌクレオチドプローブ（ASO）を用いて、1塩基の変異を容易に検出することができる。診断目的には、本発明のDNAが有する配列と同定された変異に基づき設計したオリゴヌクレオチドをフィルターに結合させ、診断検体由来DNAあるいは診断検体由来cDNAから本発明のDNAが有する配列を用いて設計したプライマーと標識したdNTPを用いたPCRで作成したプローブを用いてハイブリダイズを行うリバーズドットプロットが用いられることが多い。スライドガラスやシリコンなどの基盤に直接、本発明のDNAが有する配列と該変異に基づき設計したオリゴヌクレオチド

を合成して、高密度のアレイをつくったDNAチップ法は、少量の診断検体由来DNAあるいは診断検体由来cDNAについて多様な変異をより簡便に検出できるため大規模な診断目的に適した変異検出法である。

塩基変異は、以下のオリゴヌクレオチドライゲーションアッセイ（OLA）法によっても検出できる。

変異部位を挟んで両側にハイブリダイズする本発明のDNAが有する配列より設計した20塩基程度のオリゴヌクレオチドを2本作成する。診断検体由来DNAあるいは診断検体由来cDNAをテンプレートとして用い、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAが有する配列から設計したプライマーを用い、PCRにより増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNA断片を増幅する。該増幅断片と上記オリゴヌクレオチドとをハイブリダイズさせる。ハイブリダイズ後に、DNAリガーゼで2本のオリゴヌクレオチドを連結させる。例えば、一方のオリゴヌクレオチドにはビオチンを、他方のオリゴヌクレオチドにジゴケシゲニンのような異なる標識をつけると、連結反応が起こったかどうかを速やかに検出することが可能である。OLAは電気泳動や遠心分離操作が不要なために、多くのサンプルを効率的に短時間で診断するのに適した変異検出法である。

また、以下のPCR-PHFA法により微量な変異遺伝子を定量的かつ容易に検出することができる。

PCR-PHFA法は、遺伝子増幅法（PCR）、非常に高い特異性を示す液相でのハイブリダイゼーション、ELISAと同様の操作でPCR産物を検出するED-PCR（enzymatic detection of PCR product）の3つを組み合わせたものである。dinitrophenyl（DNP）標識およびビオチン標識したプライマーセットを用いて、本発明のDNAをテンプレートにPCR増幅を行い、両末端標識増幅物を調製する。これに対して、標識を持たない同じ配列を有するプライマーセットと診断検体由来DNAあるいは診断検体由来cDNAをテンプレートに増幅して得た非標識増幅物を20～100倍の大過剰量混合する。そして熱変性後、1℃／5分～10分程度の緩やかな温度勾配で冷却し、完全な相補鎖を優先的に形成させる。こうして再形成された標識DNAはビオチンを介してストレプトアビジン固定化ウエルに捕獲吸着し、DNPを介して酵素標識抗DNP抗体を結合させて酵素による発色反応により検出する。検体中に標識DNAと同じ配列の遺伝子が存在しない場合は、元の2本鎖の標識DNAが優先的に再形成されて

発色を示す。これに対し、同じ配列の遺伝子が存在する場合は、相補鎖の置換がランダムに生じるため再形成される標識DNAは減少するので、発色は著しく低下する。これにより、既知の変異・多型遺伝子の検出・定量が可能となる。

8 増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを特異的に認識する抗体を用いて増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを免疫学的に検出定量する方法

本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを特異的に認識する抗体（ポリクローナル抗体、あるいはモノクローナル抗体）を用いて、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを細胞内あるいは細胞外に発現した微生物、動物細胞あるいは昆虫細胞または組織を、免疫学的に検出および定量する方法としては、蛍光抗体法、酵素免疫測定法（ELISA法）、放射性物質標識免疫抗体法（RIA）、免疫組織染色法や免疫細胞染色法などの免疫組織化学染色法（ABC法、CSA法等）、ウェスタンブロッティング法、ドットブロッティング法、免疫沈降法、サンドイッチELISA法〔単クローン抗体実験マニュアル（講談社サイエンティフィック）（1987）、続生化学実験講座5 免疫生化学研究法（東京化学同人）（1986）〕などがあげられる。

蛍光抗体法とは、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを細胞内あるいは細胞外に発現した微生物、動物細胞あるいは昆虫細胞または組織に、本発明の抗体を反応させ、さらにフルオレシニン・イソチオシアネート（FITC）などの蛍光物質でラベルした抗マウスIgG抗体あるいはその断片を反応させた後、蛍光色素をフローサイトメーターで測定する方法である。

酵素免疫測定法（ELISA法）とは、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを細胞内あるいは細胞外に発現した微生物、動物細胞あるいは昆虫細胞または組織に、本発明の抗体を反応させ、さらにペルオキシダーゼ、ビオチンなどの酵素標識などを施した抗マウスIgG抗体あるいは結合断片を反応させた後、発色色素を吸光光度計で測定する方法である。

放射性物質標識免疫抗体法（RIA）とは、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを細胞内あるいは細胞外に発現した微生物、動物細胞あるいは昆虫細胞または組織に、本発明の抗体を反応させ、さらに放射線標識を施した抗マウスIgG抗体あるいはその断片を反応させた後、シンチレーションカウンターなどで測定する方法である。

免疫細胞染色法、免疫組織染色法とは、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを

細胞内あるいは細胞外に発現した微生物、動物細胞あるいは昆虫細胞または組織に、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを特異的に認識する抗体を反応させ、さらにF I T Cなどの蛍光物質、ペルオキシダーゼ、ビオチンなどの酵素標識を施した抗マウス I g G抗体あるいはその断片を反応させた後、顕微鏡を用いて観察する方法である。

ウェスタンブロッティング法とは、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを細胞内あるいは細胞外に発現した微生物、動物細胞あるいは昆虫細胞または組織の抽出液をS D S-ポリアクリルアミドゲル電気泳動〔Antibodies-A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, (1988)〕で分画した後、該ゲルをP V D F膜あるいはニトロセルロース膜にブロッティングし、該膜に本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを特異的に認識する抗体を反応させ、さらにF I T Cなどの蛍光物質、ペルオキシダーゼ、ビオチンなどの酵素標識を施した抗マウス I g G抗体あるいはその断片を反応させた後、確認する方法である。

ドットブロッティング法とは、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを細胞内あるいは細胞外に発現した微生物、動物細胞あるいは昆虫細胞または組織の抽出液をニトロセルロース膜にブロッティングし、該膜に本発明の抗体を反応させ、さらにF I T Cなどの蛍光物質、ペルオキシダーゼ、ビオチンなどの酵素標識を施した抗マウス I g G抗体あるいは結合断片を反応させた後、確認する方法である。

免疫沈降法とは、本発明のポリペプチドを細胞内あるいは細胞外に発現した微生物、動物細胞あるいは昆虫細胞または組織の抽出液を本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを特異的に認識する抗体と反応させた後、プロテインG-セファロース等イムノグロブリンに特異的な結合能を有する担体を加えて抗原抗体複合体を沈降させる方法である。

サンドイッチE L I S A法とは、本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを特異的に認識する抗体で、抗原認識部位の異なる2種類の抗体のうち、あらかじめ一方の抗体をプレートに吸着させ、もう一方の抗体をF I T Cなどの蛍光物質、ペルオキシダーゼ、ビオチンなどの酵素で標識しておき、抗体吸着プレートに、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを細胞内あるいは細胞外に発現した微生物、動物細胞あるいは昆虫細胞または組織の抽出液を反応させた後、標識した抗体を反応させ、標識物質に応じた反応を行う方法である。

9 増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを特異的に認識する抗体を用いて腎疾患を診断する方法

ヒト生体試料ならびヒト初代培養細胞での、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドの発現量の変化ならびに発現しているポリペプチドの構造変化を同定することは、将来腎疾患を発症する危険性や既に発症した腎疾患の原因を知る上で有用である。

増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドの発現量や構造変化を検出して診断する方法としては、上記した、蛍光抗体法、酵素免疫測定法（ELISA法）、放射性物質標識免疫抗体法（RIA）、免疫組織染色法や免疫細胞染色法などの免疫組織化学染色法（ABC法、CSA法等）、ウェスタンブロッティング法、ドットブロッティング法、免疫沈降法、サンドイッチELISA法などがあげられる。

上記方法による診断に供する検体としては、患者より取得した腎臓病巣部位の組織、血液、血清、尿、便、唾液などの生体試料そのものあるいは、該生体試料から取得した細胞ならびに細胞抽出液が用いられる。また、生体試料から取得した組織を、パラフィンあるいはクリオスタット切片として単離したものをを用いることもできる。

10 増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチド、該ポリペプチドをコードするDNAまたは該ポリペプチドを認識する抗体を用いて腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法

当該スクリーニング方法において用いられるDNAとしては、例えば配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、

132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157または159に表される塩基配列を有するDNAがあげられ、ポリペプチドとしては、配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、158または160に表されるアミノ酸配列から選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチド、あるいは、該ポリペプチドの有するアミノ酸とは1以上のアミノ酸が欠失、置換または付加したアミノ酸配列からなり、かつ腎疾患病変の形成と修復に關与する活性を有するポリペプチドがあげられ、抗体としては、該ポリペプチドを認識する抗体があげられる。

本発明の増殖性糸球体腎炎關連遺伝子DNAを導入して本発明の増殖性糸球体腎炎關連ポリペプチドあるいは増殖性糸球体腎炎關連ポリペプチドの一部を構成するポリペプチドを生産するように形質転換した微生物、動物細胞、または昆虫細胞ならびに、精製した増殖性糸球体腎炎關連ポリペプチドあるいは増殖性糸球体腎炎關連ポリペプチドは、増殖性糸球体腎炎關連ポリペプチドに特異的に作用する薬剤をスクリーニングするために有用である。スクリーニングにより得られた薬剤は、腎疾患の治療に有用である。

上記スクリーニングの1つの方法は、本発明の増殖性糸球体腎炎關連ポリペプチドあるいは増殖性糸球体腎炎關連ポリペプチドの一部を構成するポリペプチドを生産するように形質転換した微生物、動物細胞、または昆虫細胞（以後探索用形質転換体と称する）に特異的に結合する標的化合物を選択することである。形質転換していない微生物、動物細胞、または昆虫細胞を対照群として比較することで、特異的な標的化合物を検出することができる。また、該探索用形質転換体に特異的に結合する化合物あるいはポリペプチドの該探索用形質転換体に対する結合を阻害することを指標に、標的化合物を競合スクリーニングすることができる。

精製した本発明の増殖性糸球体腎炎關連ポリペプチドまたは増殖性糸球体腎炎關連ポリペプチドの一部を構成するポリペプチドは、増殖性糸球体腎炎關連ポリペプチドに特異的に結合する標的化合物を選択するのに用いることができる。標的化合物を定量するには、本発明の増殖性糸球体腎炎關連ポリペプチドを特異的に認識する抗体を用いて上記の免疫学的方法により行うことができる。また、増殖性糸球体腎炎關連ポリペプチドあるいは増殖性糸球体腎炎關連ポリペプチドに結合する標的化合物の該ポリペプチドあるいは増殖性糸球体腎炎關連ポリペプチ

ドに対する結合を阻害することを指標に、標的化合物を競合スクリーニングすることができる。

上記スクリーニングのもう1つの方法としては、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドの一部を構成するペプチドを多数、プラスチックピンまたはある種の固体支持体上で高密度に合成し、該ペプチドに選択的に結合する化合物あるいはポリペプチドを効率的にスクリーニングする方法がある（W084/03564）。

腎臓由来の細胞株で、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAあるいは増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドの発現を促進する発現調節用薬剤も、腎疾患の治療に有効である。

腎臓由来の細胞株に種々の被検化合物を添加し、本発明の増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAを用いて、増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAの発現の増減を検定することで増殖性糸球体腎炎関連遺伝子の転写もしくは翻訳を抑制または促進する物質をスクリーニングすることができる。増殖性糸球体腎炎関連遺伝子mRNAの発現の増減は、上記したPCR法、ノーザンブロット法、RTase保護アッセイ法により検出できる。

腎臓由来細胞株に種々の被検化合物を添加し、本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを特異的に認識する抗体を用いて、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドの発現の増減を検定することで増殖性糸球体腎炎関連遺伝子の転写もしくは翻訳を促進する物質をスクリーニングすることができる。増殖性糸球体腎炎関連蛋白の発現の増減は、上記した蛍光抗体法、酵素免疫測定法（ELISA法）、放射性物質標識免疫抗体法（RIA）、免疫組織染色法、免疫細胞染色法などの免疫組織化学染色法（ABC法、CASA法等）、ウェスタンブロッティング法、ドットブロッティング法、免疫沈降法、サンドイッチELISA法により検出できる。

上述の方法により取得した化合物は、Thy-1腎炎ラット、抗GBM腎炎、血清病型腎炎、PAN腎症、ダウノマイシン腎症、5/6腎摘出ラット、自然発症ループス腎炎などの腎疾患モデル動物に薬剤として投与し、該動物の尿中ポリペプチドやアルブミンを測定することにより、該化合物のその腎疾患への治療効果を評価することが可能である

1.1 増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを特異的に認識する抗体を用いて腎臓に特異的に薬物を輸送する方法（ドラッグデリバリー方法）

当該ドラッグデリバリー方法に用いられる抗体は、本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを認識する抗体であればいずれでも良いが、特にヒト化抗体を用いることが望ましい。

ヒト化抗体としては、ヒト型キメラ抗体、ヒト型CDR (Complementary Determining Region: 相補性決定領域; 以下、CDRと記す) 移植抗体などがあげられる。

ヒト型キメラ抗体は、ヒト以外の動物の抗体重鎖可変領域 (以下、重鎖はH鎖として、可変領域はV領域としてHVまたはVHとも称す) および抗体軽鎖可変領域 (以下、軽鎖はL鎖としてLVまたはVLとも称す) とヒト抗体の重鎖定常領域 (以下、定常領域はC領域としてCHとも称す) およびヒト抗体の軽鎖定常領域 (以下、CLとも称す) とからなる抗体を意味する。ヒト以外の動物としては、マウス、ラット、ハムスター、ラビット等、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマを作製することが可能であれば、いかなるものも用いることができる。

本発明のヒト型キメラ抗体は、増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドに結合し、本発明のポリペプチドの作用を中和するモノクローナル抗体を生産するハイブリドーマより、VHおよびVLをコードするcDNAを取得し、ヒト抗体CHおよびヒト抗体CLをコードする遺伝子を有する動物細胞用発現ベクターにそれぞれ挿入してヒト型キメラ抗体組換えベクターを構築し、動物細胞へ導入することにより発現させ製造することができる。

ヒト型キメラ抗体のCHとしては、ヒトイムノグロブリン (以下、hIgと表記する) に属すればいかなるものでもよいが、hIgGクラスのもの好適であり、更にhIgGクラスに属するhIgG1、hIgG2、hIgG3、hIgG4といったサブクラスのいずれも用いることができる。また、ヒト型キメラ抗体のCLとしては、hIgに属すればいかなるものでもよく、 κ クラスあるいは λ クラスのものを用いることができる。

ヒト型CDR移植抗体は、ヒト以外の動物の抗体のVHおよびVLのCDRのアミノ酸配列をヒト抗体のVHおよびVLの適切な位置に移植した抗体を意味する。

本発明のヒト型CDR移植抗体は、本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドに反応し、本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドに結合し、本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドの作用を中和する、ヒト以外の動物の抗体の

VHおよびVLのCDR配列で任意のヒト抗体のVHおよびVLのCDR配列をそれぞれ置換したV領域をコードするcDNAを構築し、ヒト抗体のCHおよびヒト抗体のCLをコードする遺伝子を有する動物細胞用発現ベクターにそれぞれ挿入してヒト型CDR移植抗体組換えベクターを構築し、動物細胞へ導入し、発現させることにより製造することができる。

ヒト型CDR移植抗体のCHとしては、hIgに属すればいかなるものでもよいが、hIgGクラスのもの好適であり、更にhIgGクラスに属するhIgG1、hIgG2、hIgG3、hIgG4といったサブクラスのいずれも用いることができる。また、ヒト型CDR移植抗体のCLとしては、hIgに属すればいかなるものでもよく、κクラスあるいはλクラスのものを用いることができる。

ヒト抗体は、元来、ヒトの体内に天然に存在する抗体を意味するが、最近の遺伝子工学的、細胞工学的、発生工学的な技術の進歩により作製されたヒト抗体ファージライブラリーおよびヒト抗体産生トランスジェニック動物から得られる抗体等も含まれる。

ヒトの体内に存在する抗体は、例えば、以下の方法により取得することができる。

ヒト末梢血リンパ球を単離し、EBウイルス等を感染させ不死化させた後、クローニングする。得られた目的とする抗体を産生するリンパ球を培養し、培養物中より該抗体を取得することができる。

ヒト抗体ファージライブラリーは、ヒトB細胞から調製した抗体遺伝子をファージ遺伝子に挿入することによりFab、一本鎖抗体等の抗体断片をファージ表面に発現させたライブラリーである。該ライブラリーより、抗原を固定化した基質に対する結合活性を指標として所望の抗原結合活性を有する抗体断片を発現しているファージを回収することができる。該抗体断片は、更に遺伝子工学的手法により、完全型ヒト抗体へ変換することができる。

ヒト抗体産生トランスジェニック動物は、ヒト抗体遺伝子が細胞内に組込まれた動物を意味する。具体的には、マウスES細胞へヒト抗体遺伝子を導入し、該ES細胞を他のマウスの初期胚へ移植後、発生させることによりヒト抗体産生トランスジェニック動物を作製することができる。ヒト抗体産生トランスジェニック動物からのヒト抗体の作製方法としては、通常のヒト以外の哺乳動物で行われ

ているハイブリドーマ作製方法によりヒト抗体産生ハイブリドーマを得、培養することで培養物中にヒト抗体を産生蓄積させる方法があげられる。

抗体断片としては、F a b、F a b'、F (a b')₂、一本鎖抗体、ジスルフィド安定化V領域断片（以下、d s F vとも称す）、C D Rを含むペプチドなどがあげられる。

F a bは、I g Gをタンパク質分解酵素パパインで処理して得られる断片のうち（H鎖の224番目のアミノ酸残基で切断される）、H鎖のN末端側約半分とL鎖全体がジスルフィド結合で結合した分子量約5万の抗原結合活性を有する抗体断片である。

本発明のF a bは、本発明のポリペプチドに特異的に反応する抗体をタンパク質分解酵素パパインで処理して得ることができる。また、該抗体のF a bをコードするDNAを原核生物用発現ベクターあるいは真核生物用発現ベクターに挿入後、該ベクターを原核生物あるいは真核生物へ導入し、該DNAを発現させることによりF a bを取得することができる。

F (a b')₂は、I g Gをタンパク質分解酵素ペプシンで処理して得られる断片のうち（H鎖の234番目のアミノ酸残基で切断される）、F a bがヒンジ領域のジスルフィド結合を介して結合されたものよりやや大きい、分子量約10万の抗原結合活性を有する抗体断片である。

本発明のF (a b')₂は、本発明のポリペプチドに特異的に反応する抗体をタンパク質分解酵素ペプシンで処理して得ることができる。また、該抗体のF (a b')₂をコードするDNAを原核生物用発現ベクターあるいは真核生物用発現ベクターに挿入後、該ベクターを原核生物あるいは真核生物へ導入し、該DNAを発現させることにより、F a b'を取得することができる。

F a b'は、上記F (a b')₂のヒンジ領域のジスルフィド結合を切断した分子量約5万の抗原結合活性を有する抗体断片である。

本発明のF a b'は、本発明のポリペプチドに特異的に反応する抗体を還元剤ジチオスレイトール処理して得ることができる。また、該抗体のF a b'断片をコードするDNAを原核生物用発現ベクターあるいは真核生物用発現ベクターに挿入後、該ベクターを原核生物あるいは真核生物へ導入し、該DNAを発現させることにより、F a b'を取得することができる。

一本鎖抗体（以下、s c F vとも称す）は、一本のV Hと一本のV Lとを適当

なペプチドリンカー（以下、P と称す）を用いて連結した、VH-P-VLないしはVL-P-VHポリペプチドを示す。本発明で使用される s c F v に含まれる VH および VL は、本発明のポリペプチドに特異的に反応する抗体、例えば、ヒト化抗体またはヒト抗体から由来したものをを用いることができる。

本発明の一本鎖抗体は、以下の方法により取得できる。

本発明のポリペプチドに特異的に反応する抗体の VH および VL をコードする c DNA を取得後、一本鎖抗体をコードする DNA を構築する。該 DNA を原核生物用発現ベクターあるいは真核生物用発現ベクターに挿入後、該組換えベクターを原核生物あるいは真核生物へ導入し、該 DNA を発現させることにより、一本鎖抗体を取得することができる。

ジスルフィド安定化 V 領域断片 (d s F v) は、VH および VL 中のそれぞれ 1 アミノ酸残基をシステイン残基に置換したポリペプチドを該システイン残基間のジスルフィド結合を介して結合させたものをいう。システイン残基に置換するアミノ酸残基は Reiter らにより示された方法 [Protein Engineering, 7, 697 (1994)] に従って、抗体の立体構造予測に基づいて選択することができる。本発明で使用される d s F v に含まれる VH および VL は本発明のポリペプチドに特異的に反応する抗体、例えば、ヒト化抗体またはヒト抗体から由来するものをを用いることができる。

本発明のジスルフィド安定化 V 領域断片 (d s F v) は、以下の方法により取得することができる。

本発明のポリペプチドに特異的に反応する抗体の VH および VL をコードする c DNA を取得後、d s F v をコードする DNA を構築する。該 DNA を原核生物用発現ベクターあるいは真核生物用発現ベクターに挿入後、該組換えベクターを原核生物あるいは真核生物へ導入し、該 DNA を発現させることにより、d s F v を取得することができる。

CDR を含むペプチドは、F m o c 法、t B o c 法等の化学合成法によって製造することができる。

本発明の抗体により調製された以下に述べる融合抗体は、腎臓の病巣に薬剤やタンパク質を運ぶ、ドラッグデリバリーに用いることができる。

融合抗体は、本発明のポリペプチドに特異的に反応する抗体、例えば、ヒト化抗体、ヒト抗体およびそれらの抗体断片に放射性同位元素、ポリペプチド、低分

子化合物等の薬剤などを化学的あるいは遺伝子工学的に結合させた抗体をいう。

本発明の融合抗体は、本発明のポリペプチドに特異的に反応する抗体および抗体断片のH鎖或いはL鎖のN末端側或いはC末端側、抗体および抗体断片中の適当な置換基あるいは側鎖、さらには抗体および抗体断片中の糖鎖に放射性同位元素、ポリペプチドあるいは低分子化合物等の薬剤などを化学的あるいは遺伝子工学的に結合させることにより製造することができる。

放射性同位元素としては、 ^{131}I 、 ^{125}I 等があげられ、例えば、クロラミンT法等により、抗体または抗体断片に結合させることができる。

低分子化合物としては、ナイトロジェン・マスタード、サイクロフォスファミドなどのアルキル化剤、5-フルオロウラシル、メソトレキセートなどの代謝拮抗剤、ダウノマイシン、ブレオマイシン、マイトマイシンC、ダウノルビシン、ドキソルビシンなどの抗生物質、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビンデシンのような植物アルカロイド、タモキシフェン、デキサメタゾンなどのホルモン剤等の抗癌剤〔臨床腫瘍学（日本臨床腫瘍研究会編 1996年 癌と化学療法社）〕、またはハイドロコチゾン、プレドニゾンなどのステロイド剤、アスピリン、インドメタシンなどの非ステロイド剤、金チオマレート、ペニシラミンなどの免疫調節剤、サイクロフォスファミド、アザチオプリンなどの免疫抑制剤、マレイン酸クロルフェニラミン、クレマシチンのような抗ヒスタミン剤等の抗炎症剤〔炎症と抗炎症療法 昭和57年 医歯薬出版株式会社〕などがあげられる。

定法により上記抗体に低分子化合物を結合させることができるが、例えば、ダウノマイシンと抗体を結合させる方法としては、グルタルアルデヒドを介してダウノマイシンと抗体のアミノ基間を結合させる方法、水溶性カルボジイミドを介してダウノマイシンのアミノ基と抗体のカルボキシル基を結合させる方法等があげられる。

ポリペプチドとしては、免疫担当細胞を活性化するサイトカインや血管内皮、血管平滑筋等の増殖制御因子が好適であり、例えば、ヒトインターロイキン2、ヒト顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子、ヒトマクロファージコロニー刺激因子、ヒトインターロイキン12、線維芽細胞増殖因子-2（FGF-2）、血小板由来増殖因子（PDGF）等があげられる。

ポリペプチドとの融合抗体は、以下の方法により取得できる。

抗体または抗体断片をコードするcDNAにポリペプチドをコードするcDN

Aを連結させて、融合抗体をコードするDNAを構築する。該DNAを原核生物あるいは真核生物用発現ベクターに挿入後、該組換えベクターを原核生物あるいは真核生物へ導入し、該DNAを発現させることにより、融合抗体を取得することができる。

1 2 増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを含有する腎疾患治療薬

本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドは腎炎をはじめとする腎疾患において、腎臓の構造ならびに機能を再構築するのに用いることができる。

本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを含有する腎疾患治療薬は、有効成分として該ポリペプチドのみを含むものであってもよいが、通常薬理学的に許容される1以上の担体と一緒に混合し、製剤学の技術分野においてよく知られる任意の方法により製剤した医薬製剤として提供するのが望ましい。

投与経路は、治療に際して最も効果的なものを使用するのが望ましく、経口投与、または口腔内、気道内、直腸内、皮下、筋肉内および静脈内等の非経口投与をあげることができる。投与形態としては、噴霧剤、カプセル剤、錠剤、顆粒剤、シロップ剤、乳剤、座剤、注射剤、軟膏、テープ剤等があげられる。

経口投与に適当な製剤としては、乳剤、シロップ剤、カプセル剤、錠剤、散剤、顆粒剤等があげられる。例えば乳剤およびシロップ剤のような液体調製物は、水、ショ糖、ソルビトール、果糖等の糖類、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール等のグリコール類、ごま油、オリーブ油、大豆油などの油類、p-ヒドロキシ安息香酸エステル類等の防腐剤、ストロベリーフレーバー、ペパーミント等のフレーバー類等を添加剤として用いて製造できる。カプセル剤、錠剤、散剤、顆粒剤等は、乳糖、ブドウ糖、ショ糖、マンニトール等の賦形剤、デンプン、アルギン酸ナトリウム等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤、ポリビニルアルコール、ヒドロキシプロピルセルロース、ゼラチン等の結合剤、脂肪酸エステル等の界面活性剤、グリセリン等の可塑剤等を添加剤として用いて製造できる。

非経口投与に適当な製剤としては、注射剤、座剤、噴霧剤等があげられる。例えば、注射剤は、塩溶液、ブドウ糖溶液、あるいは両者の混合物からなる担体等を用いて調製する。座剤はカカオ脂、水素化脂肪またはカルボン酸等の担体を用いて調製される。また、噴霧剤は該ポリペプチドそのもの、ないしは受容者の口腔および気道粘膜を刺激せず、かつ該ポリペプチドを微細な粒子として分散させ

吸収を容易にさせる担体等を用いて調製する。担体として具体的には乳糖、グリセリン等が例示される。該ポリペプチドおよび用いる担体の性質により、エアロゾル、ドライパウダー等の製剤が可能である。また、これらの非経口剤においても経口剤で添加剤として例示した成分を添加することもできる。

投与量または投与回数は、対象疾患の種類、投与方法、治療期間、年齢、体重等により異なるが、通常成人1日当たり $10\mu\text{g}/\text{kg}\sim 8\text{mg}/\text{kg}$ である。

1.3 増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAを含有する遺伝子治療剤

本発明の増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAを含有するウイルスベクターを用いた遺伝子治療剤は、上記4項で作製した組換えウイルスベクターおよび遺伝子治療剤に用いる基剤を調合することにより製造することができる〔Nature Genet., 8, 42(1994)〕。

遺伝子治療剤に用いる基剤としては、通常注射剤に用いる基剤であればどのようなものでもよく、蒸留水、塩化ナトリウム又は塩化ナトリウムと無機塩との混合物等の塩溶液、マンニトール、ラクトース、デキストラン、グルコース等の糖溶液、グリシン、アルギニン等のアミノ酸溶液、有機酸溶液又は塩溶液とグルコース溶液との混合溶液等があげられる。また常法に従い、これらの基剤に浸透圧調整剤、pH調整剤、ゴマ油、ダイズ油等の植物油又はレシチンもしくは非イオン界面活性剤等の界面活性剤等の助剤を用いて、溶液、懸濁液、分散液として注射剤を調製してもよい。これらの注射剤を、粉末化、凍結乾燥等の操作により用時溶解用製剤として調製することもできる。本発明の遺伝子治療剤は、液体の場合はそのまま、個体の場合は必要により滅菌処理をした上記の基剤に遺伝子治療の直前に溶解して治療に使用することができる。本発明の遺伝子治療剤の投与方法としては、患者の治療部位の腎臓に吸収されるように、局所的に投与する方法をあげることができる。

より特異的に腎臓病巣にウイルスベクターを輸送するシステムとして、BMP-7受容体の特異的に認識する一本鎖抗体とレトロウイルスベクターのEnv蛋白の融合蛋白を用いる方法がある〔Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92, 7570-7574 (1995)〕。本システムはレトロウイルスベクターに限定されず、レンチウイルスベクター等にも応用することができる。

適当なサイズの本発明の増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAを、アデノウイルス・ヘキソンポリペプチドに特異的なポリリジン-コンジュゲート抗体と組み合

わせてコンプレックスを作製し、得られたコンプレックスをアデノウイルスベクターに結合させることにより、ウイルスベクターを調製することができる。該ウイルスベクターは安定に標的細胞に到達し、エンドソームにより細胞内に取り込まれ、細胞内で分解され効率的に遺伝子を発現させることができる。

(一) 鎖RNAウイルスであるセンダイウイルスをベースにしたウイルスベクターも開発されており (WO 97/16538、WO 97/16539)、遺伝子治療を目的としてKRGF-1遺伝子を組み込んだセンダイウイルスベクターを作製することができる。

増殖性糸球体腎炎関連遺伝子DNAは、非ウイルス遺伝子移入法によっても腎臓病巣に輸送することができる。

当該分野で公知の非ウイルス遺伝子移入法には、リン酸カルシウム共沈法 [Virology, 52, 456-467 (1973); Science, 209, 1414-1422 (1980)]、マイクロインジェクション法 [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 5399-5403 (1980); Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 7380-7384 (1980); Cell, 27, 223-231 (1981); Nature, 294, 92-94 (1981)]、リポソームを介した膜融合-介在移入法 [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 7413-7417 (1987); Biochemistry, 28, 9508-9514 (1989); J. Biol. Chem., 264, 12126-12129 (1989); Hum. Gene Ther., 3, 267-275, (1992); Science, 249, 1285-1288 (1990); Circulation, 83, 2007-2011 (1992)]あるいは直接DNA取り込みおよび受容体-媒介DNA移入法 [Science, 247, 1465-1468 (1990); J. Biol. Chem., 266, 14338-14342 (1991); Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 3655-3659 (1991); J. Biol. Chem., 264, 16985-16987 (1989); BioTechniques, 11, 474-485 (1991); Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 3410-3414 (1990); Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, 4255-4259 (1991); Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 4033-4037 (1990); Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, 8850-8854 (1991); Hum. Gene Ther., 3, 147-154 (1991)]等をあげることができる。

リポソームを介した膜融合-介在移入法ではリポソーム調製物を標的とする組織に直接投与することにより、当該組織の局所的な遺伝子の取り込みおよび発現が可能であることが腫瘍に関する研究において報告されている [Hum. Gene Ther., 3, 399-410 (1992)]。したがって同様の効果が腎臓病巣でも期待される。DNAを腎臓病巣に直接ターゲッティングするには、直接DNA取り込み技術が好

ましい。受容体-媒介DNA移入は、例えば、ポリリジンを紹介して、タンパク質リガンドにDNA(通常、共有的に閉環したスーパーコイル化プラスミドの形態をとる)をコンジュゲートすることによって行う。リガンドは、標的細胞または組織の細胞表面上の対応するリガンド受容体の存在に基づいて選択する。受容体とリガンドの組み合わせとしては、例えばBMP-7受容体とBMP-7の組み合わせが包含される。当該リガンド-DNAコンジュゲートは、所望により、血管に直接注射することができ、受容体結合およびDNA-ポリペプチドコンプレックスの内在化が起こる標的組織に指向し得る。DNAの細胞内破壊を防止するために、アデノウイルスを同時感染させて、エンドソーム機能を崩壊させることもできる。

1 4 増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを特異的に認識する抗体を含有する腎疾患治療薬

本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを特異的に認識する抗体は、腎臓での細胞新生が亢進している腎臓ガンなどの疾患を治療するのに直接利用することができる。

本発明の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを特異的に認識する抗体を含有する治療薬は、有効成分としての該抗体のみを含むものであってもよいが、通常は薬理学的に許容される1以上の担体と一緒に混合し、製剤学の技術分野においてよく知られる任意の方法により製造した医薬製剤として提供するのが望ましい。該治療薬の調製、投与は前記1 3の増殖性糸球体腎炎関連ポリペプチドを含有する医薬に準じて行なうことができる。

以下、本発明の実施例を示す。

発明を実施するための最良の形態

実施例1 Thy-1腎炎ラット腎臓cDNAライブラリーの作製

Wistar系雄性ラット(日本SLC社製、体重200g前後)20個体に抗ラットThy-1モノクローナル抗体OX-7(セダレーン社製)を1mg/kgの用量で尾静脈注入投与し、腎炎を惹起させた。対照群には生理食塩水を投与した。なお、これらのラットについては尿中のポリペプチド濃度を検尿スティック プレテスト6B(和光純薬工業社製)を用いて測定し、腎炎の状態の指標とした。

OX-7投与後2、4、6、8、10、13、16日目のラット各3個体ずつ

(16日めのみ2個体)、および対照群のラットから腎臓を摘出し、各個体ごとにチオシアン酸グアニジーントリフルオロ酢酸セシウム法 [Methods in Enzymology, 154, 3 (1987)] により全RNAを抽出した。ただし、対照群は、各個体からは抽出せず生理食塩水投与後2日目および10日目のラット各3個体ずつの腎臓をそれぞれまとめて処理した腎臓組織溶解物の等量ずつの混合物から全RNAを抽出した。これらの全RNAのうちOX-7投与後2、4、6、8、10日目ラット腎臓の各個体の全RNAを等量ずつ混合し、オリゴdTセルロースを用いてポリ(A) RNAを調製した後、ZAP-cDNA合成キット (ZAP-cDNA Synthesis Kit、ストラタジーン社製) を用いて、独立プラーク総数 1.0×10^6 のcDNAライブラリー (Thy-1腎炎ラット腎臓cDNAライブラリー) を作製した。cDNAの作製方法の詳細は、キットのマニュアルに従った。このcDNAライブラリーは、 λ ファージベクター λ ZAP II (ストラタジーン社製) をベクターとして、ベクターのXho I/EcoRIサイト間にcDNAの5'端がEcoRIサイト側になるように挿入されている。

実施例2 差分化ライブラリーの作製

(1) 一本鎖DNAの調製

実施例1で調製したThy-1腎炎ラット腎臓cDNAライブラリー (λ ファージの状態) を、ヘルパーファージExAssist (ストラタジーン社製) とともに宿主細胞 *Escherichia coli* XL1-Blue MRF' (ストラタジーン社製) に感染させ、イン・ビボ・エクシジョン (in vivo excision) を行うことにより、ベクターからcDNAを含むファージミド pBluescript SK(-) 部分を一本鎖DNAファージとして切り出し、培養上清中に放出させた。イン・ビボ・エクシジョンの方法は、ストラタジーン社のマニュアルに従った。この培養上清 (タイター: 8.5×10^5 cfu/ μ l) 200 μ l を、ExAssistが感染しない宿主細胞である *Escherichia coli* SORL (ストラタジーン社製) 1.8×10^{10} 個を含む10 mmol/l MgSO₄ 7ml に添加し37℃で15分間保温した。全量を2×YT培地 (1.6%バクトトリプトン、1%イーストエキス) 200 ml に添加して37℃で1時間振とう培養し、cDNAを含む一本鎖DNAファージを感染させた。これに、アンピシリンを50 μ g/ml 濃度になるよう添加し、さらに37℃で1時間振とう培養し、ファージ感染大腸菌のみを増殖させた。600 nmの吸光度で細胞数を測定したところ 4×10^{10} 個だった。ヘルパ

ーファージR408（ストラタジーン社製）を感染多重度（m.o.i.）＝13（ 5×10^{11} p.f.u.）で添加して37℃で7時間振とう培養し、再度一本鎖DNAを上清に放出させた。培養液を滅菌チューブに移し、4℃で10000 rpm、10分間遠心分離し、ファージを含む上清のみを新しい滅菌チューブに移して回収した。この上清を再度同条件で遠心分離した後、孔径0.22mmの滅菌フィルター（ミリポア社製）に通し、菌体を完全に除いた。10×緩衝液〔100mmol/l Tris-HCl（pH7.5）、100mmol/l MgCl₂〕20ml、デオキシリボヌクレアーゼI（ニッポンジーン社製）140単位を添加し、37℃で30分間反応させた。これに1/4容の20%ポリエチレングリコール（分子量6000）含有2.5mol/l NaCl溶液を加えてよく混合して室温に20分間静置した後、4℃で10000 rpm、10分間遠心分離し、ファージを沈殿させた。上清を完全に除き、得られたファージの沈殿を、400μlのTE〔100mmol/l Tris-HCl（pH8.0）、1mmol/l EDTA（pH8.0）〕に溶解し、10%SDSを4μl、プロテイナーゼKを625μg（25μl）添加して、42℃で1時間反応させた。フェノール抽出、フェノール-クロロホルム抽出、クロロホルム抽出の後、水層をエタノール沈殿し、Thy-1腎炎ラット腎臓cDNAライブラリーの一本鎖DNA〔ベクターpBluescript SK(-)〕77.6μgを得た。

（2）RNAのビオチン化

実施例1で対照群ラットの腎臓から調製した全RNA1.2mgからオリゴdTセルロースを用いてポリ（A）RNA20μgを調製した。このうちの10μgに蒸留水を試験管に添加して20μlにし、これに1mg/mlのフォトプローブビオチン〔PHOTOPROBE biotin、ベクター・ラボラトリーズ（Vector Laboratories）社製〕30μg（30μl）を暗所で加えた。試験管の蓋を開けて氷上に置き、約10cmの高さから水銀ランプで20分間光照射してRNAをビオチン化した。反応液に100mmol/l Tris-HCl（pH9.5）と1mmol/l EDTA（pH8.0）の溶液50μlを加えた後、水飽和ブタノール抽出を3回行い、さらにクロロホルム抽出を2回行った後、水層をエタノール沈殿した。回収したRNAの沈殿を20μlの蒸留水に溶解し、上記のビオチン化反応の操作（フォトプローブビオチンの添加～エタノール沈殿）を再度行い、ビオチン化RNAを得た。

(3) 差分化

(1) で調製したThy-1腎炎ラット腎臓cDNAライブラリーの一本鎖DNA $0.5 \mu\text{g}$ ($1 \mu\text{l}$) に、 $2\times$ ハイブリダイズ用緩衝液 [80% ホルムアミド、 100mmol/l HEPES (pH7.5)、 2mmol/l EDTA (pH8.0)、 0.2% SDS] $12.5 \mu\text{l}$ 、 2.5mol/l NaCl $2.5 \mu\text{l}$ 、ポリ(A) (アマシャム・ファルマシア・バイオテック社製) を $1 \mu\text{g}$ ($1 \mu\text{l}$) 添加し、さらに(2)で調製したビオチン化RNA (RNA $10 \mu\text{g}$ 分) を $8 \mu\text{l}$ の蒸留水に溶解して添加した。混合液を 65°C で 10 分間加熱した後、 42°C で 63 時間ハイブリダイゼーションを行った。

ハイブリダイゼーション反応後の液に緩衝液 [500mmol/l NaCl、 50mmol/l HEPES (pH7.5)、 2mmol/l EDTA (pH8.0)] $400 \mu\text{l}$ を加え、ここにストレプトアビジン (ライフ・テクノロジー社製) $10 \mu\text{g}$ ($5 \mu\text{l}$) 添加し、室温で 5 分間反応させた。フェノール-クロロホルム抽出を行い、ストレプトアビジン-ビオチン化RNA-ハイブリダイズしたcDNAからなる複合体を水層から除去した。水層に再度ストレプトアビジン $10 \mu\text{g}$ を添加し室温で 5 分間反応させ、フェノール-クロロホルム抽出を 2 回行った後、クロロホルム抽出を行い水層を回収した。水層をユニットフィルター ウルトラフリーC3プラスTK (ミリポア社製) に通してフィルターにcDNAを吸着・洗浄後、 $1/10$ TE [1mmol/l Tris-HCl (pH8.0)、 0.1mmol/l EDTA (pH8.0)] $30 \mu\text{l}$ 中に回収することによりcDNAの濃縮と脱塩を行った。このフィルターを用いた操作はミリポア社のマニュアルに従った。この差分化操作により、Thy-1腎炎ラット腎臓と対照群ラット腎臓の双方で発現量の多い遺伝子のcDNAがcDNAライブラリーより除去され、Thy-1腎炎ラット腎臓で発現しているが、対照群ラット腎臓ではほとんど発現していない遺伝子のcDNAが濃縮される。ただし、上記の差分化操作だけでは、Thy-1腎炎ラット腎臓でごく低いレベルで発現している遺伝子でも、対照群ラット腎臓でほとんど発現していない遺伝子であれば、その遺伝子のcDNAも濃縮されてしまうので、以降の(5)に示す逆差分化を行い、Thy-1腎炎ラット腎臓でごく低いレベルで発現している遺伝子のcDNAを除いたものをライブラリーとする。

(4) 差分化後のcDNAの増幅

(3) の差分化操作後の cDNA はかなり量が減っていると思われるので、(5) に示す逆差分化を行うために以下のようにして量をふやした。差分化後の cDNA (一本鎖 DNA) の半量 $15 \mu\text{l}$ に、蒸留水 $14 \mu\text{l}$ 、 $5'$ -AP プライマー $2 \mu\text{g}$ ($1 \mu\text{l}$) を加え、 65°C で 10 分間加熱した後、室温に 5 分間置いてプライマーを一本鎖 DNA にアニーリングさせた。これに $1.0 \times \text{BcaBEST}$ T 反応用緩衝液 [BcaBEST ジデオキシシークエンシングキット (BcaBEST Dideoxy Sequencing Kit、宝酒造社製) に添付のもの] $5 \mu\text{l}$ 、 1mmol/l dNTP (dATP、dGTP、dCTP、TTP 各 1mmol/l の混合物) $10 \mu\text{l}$ 、一本鎖 DNA 結合ポリペプチド (USB 社製) $1.5 \mu\text{g}$ ($0.5 \mu\text{l}$)、BcaBEST DNA ポリメラーゼ (宝酒造社製) 4 単位 ($2 \mu\text{l}$) および蒸留水 $2.5 \mu\text{l}$ を添加し、 65°C で 1 時間反応させ、二本鎖 DNA を合成した。該反応液に $50 \mu\text{l}$ の蒸留水を加え、フェノール-クロロホルム抽出、クロロホルム抽出を行った後、(3) と同様にしてユニットフィルターウルトラフリー C3 プラス TK を用いて最終的に $\text{TE } 20 \mu\text{l}$ 中に二本鎖 DNA を回収した。

回収した二本鎖 DNA 全量 ($4 \mu\text{l}$) を Escherichia coli DH12S (ライフ・テクノロジー社市販) にエレクトロポレーションにより導入した。エレクトロポレーション操作後の Escherichia coli DH12S に SOC 培地を 1.5ml 添加した後、LB-Ap 培地 (1% バクトトリプトン、0.5% イーストエキス、1% NaCl、 $50 \mu\text{g/ml}$ アンピシリン) 42.5ml 中に植菌した。この段階でのタイターは $4.3 \times 10^6 \text{cfu}$ であった。 37°C で 4 時間培養し、 600nm の吸光度を測定して細胞数を調べたところ $1 \sim 1.5 \times 10^8 \text{個/ml}$ であった。半量はジメチルスルフォキシドを濃度 7% になるように添加して、 -80°C で保存し、残りの半量に $\text{moi} = 14 \sim 20$ の量の、ヘルパーファージ R408 $5 \times 10^{10} \text{pfu}$ を感染させた。 37°C で 15 分間培養した後、 5ml ずつを $2 \times \text{YT}$ 培地 $45 \text{ml} \times 5$ 本に植菌し、 37°C で培養した。培養開始から 2 時間 30 分後にアンピシリンを $100 \mu\text{g/ml}$ の濃度になるように添加し、さらに 5 時間 30 分培養し、培養液中に一本鎖 DNA フェージを放出させた。この培養液から (1) と同様にして、一本鎖 DNA $30.8 \mu\text{g}$ を精製した。

(5) 逆差分化

実施例 1 で調製した Thy-1 腎炎ラット腎臓のポリ (A) RNA $2.5 \mu\text{g}$

を(2)と同様にしてビオチン化した。このビオチン化RNAを(4)で調製した差分化後の一本鎖cDNA 2.5 μ gに添加し、蒸留水を加えて9 μ lにした。これに(3)の差分化と同様の2 \times ハイブリダイズ緩衝液12.5 μ l、2.5 mol/l NaCl 2.5 μ lおよびポリ(A) 1 μ g (1 μ l)を添加し、65 $^{\circ}$ Cで10分間加熱した後、42 $^{\circ}$ Cで59時間ハイブリダイゼーションを行った。

ハイブリダイゼーション反応後の液に対して(3)の差分化と同様にしてストレプトアビジンを反応させた。フェノール-クロロホルム抽出を行って水層を除き、Thy-1腎炎ラット腎臓のビオチン化RNAとハイブリダイズしたcDNAとの複合体を含むフェノール-クロロホルム層を回収した。これにTEを加えて抽出する操作を三度繰り返した後、フェノール-クロロホルム層に再度TEを加えて95 $^{\circ}$ Cで5分間加熱することにより、ビオチン化RNAとcDNAを解離させた。反応層を氷水に漬けて急冷した後、激しく攪拌して解離したcDNAを水層に抽出した。この溶液を再度95 $^{\circ}$ Cで5分間加熱後、急冷して抽出操作を繰り返し、遠心分離により解離したcDNAを含む水層を回収した。この水層をフェノール-クロロホルム抽出、クロロホルム抽出を行った後、さらに(3)と同様にしてユニットフィルター-ウルトラフリーC3プラスTKに通してフィルターにcDNAを吸着、洗浄後、1/10 TE 30 μ l中に回収することによりcDNAの濃縮と脱塩を行った。

(6) cDNAライブラリーの作製

(5)で得られた逆差分化後の1本鎖cDNAについて、半量を(4)と同様にして二本鎖化した後、その1/8量をエレクトロポレーションにより *Escherichia coli* DH12Sに導入し、逆差分化cDNAライブラリーを作製した。ライブラリーの一部を用いた解析により、このライブラリーの独立コロニー数は 2.5×10^4 cfuであり、cDNAが挿入されている率は98%と推定された。

実施例3 ディファレンシャルハイブリダイゼーション

(1) アレイフィルターの作製

実施例3の(6)で作製した逆差分化cDNAライブラリーを用いて、LB-Ap寒天培地上にコロニーを形成させ、その内の9600コロニーをLB-Ap培地100 μ lを入れた96穴プレート100枚に1コロニー/1穴になるよう植菌した。各コロニーは96穴プレート中で37 $^{\circ}$ Cで培養後、50%グリセロー

ル $50\mu\text{l}$ を添加して -80°C にて保存した（この保存培養液をグリセロールストックとよぶ）。

LB-Ap 培地 $100\mu\text{l}$ を分注した 96 穴プレートに、再度グリセロールストックから 96 ピンレプリケーターを使用して植菌し、 37°C で一晚静置培養した。この大腸菌を含んだ培養液を自動分注装置 Hydra 96 を用いて、 $0.5\mu\text{l}$ ずつナイロンメンブレン上に 96 穴プレートと同じ格子状（縦 $8\times$ 横 12 ）にスポットした。1 枚のナイロンメンブレンには 96 穴プレート 4 枚分に相当する 384 コロニーを格子状（縦 $16\times$ 横 24 ）にスポットし、また 1 つのコロニーについて 2 枚のメンブレンの同じ位置にスポットし、同じメンブレンが 2 枚ずつできるようにした。培養液をスポットしたメンブレンを LB-Ap 寒天培地上に、スポットした面を上にして乗せ、 37°C で一晚培養した。

大腸菌のコロニーが十分に生育したメンブレンを培地からはがし、DNA 変性溶液（ 0.5mol/l NaOH、 1.5mol/l NaCl）を染み込ませたろ紙上にのせ、室温で 10 分間放置し、DNA を変性させた後、中和溶液〔 1.0mol/l Tris-HCl（pH 7.5）、 1.5mol/l NaCl〕を染み込ませたろ紙上にメンブレンを移し、室温で 10 分間放置した。バットに十分量用意した 0.5% SDS を含む $2\times$ SSC（ 0.3mol/l 塩化ナトリウム、 30mmol/l クエン酸ナトリウム）中で、メンブレン上の菌体塊をこすり洗った後、同緩衝液を 2 回交換して洗浄した。メンブレンをポリエチレンバッグ中に移し、 $250\mu\text{g/ml}$ の濃度にプロテイナーゼ K を溶解させた反応緩衝液〔 50mmol/l トリス-塩酸（pH 8.5）、 50mmol/l EDTA、 100mmol/l 塩化ナトリウム、 1% ラウリルサルコシン酸ナトリウム〕を添加して密封し、 37°C で 2 時間反応させた。メンブレンをバッグから取り出して、 $2\times$ SSC で洗浄した後、再度ポリエチレンバッグに入れ、 $400\mu\text{g/ml}$ の濃度でプロテイナーゼ阻害剤 Pefabloc（ロシュ社製）を含む $2\times$ SSC を添加して密封し、室温で 1 時間処理した。メンブレンをバッグから取り出して、 $2\times$ SSC で洗浄した。最後にクロスリンカーオプティマルリンク（フナコシ社製）を用いて紫外線照射により DNA をメンブレンに固定化した。このようにして得られたメンブレンをアレイフィルターと呼ぶ。

（2）リボプローブの調製

実施例 1 で調製した Thy-1 腎炎ラットおよび対照群ラットの腎臓のポリ（

A) RNAから以下のようにしてジゴキシゲニン (DIG) 標識リボプローブを作製した。メンブレン枚数が多く、大量のプローブが必要なため 100 cm^2 のメンブレン 50 枚をハイブリダイゼーションするためには $150\text{ }\mu\text{g}$ のプローブが必要である。まずポリ (A) RNA から二本鎖 cDNA を調製し、その cDNA を鋳型にして T7 RNA ポリメラーゼ反応を行うことにより、DIG を取り込ませたりボプローブを得た。

(2) - 1 二本鎖 cDNA の調製

それぞれのポリ (A) RNA $5\text{ }\mu\text{g}$ 、T7 dT プライマー (配列番号 161 ; 5' 末端に T7 プロモーターの配列を持つ。) $8\text{ }\mu\text{g}$ を混合し、 $7.8\text{ }\mu\text{l}$ になるように蒸留水 (純水をさらに 2 回蒸留したもの、以下同じ) を添加し、 70°C 、10 分間加熱した後、氷上で急冷した。5×ハイブリダイズ緩衝液 (市販酵素に添付されているもの) $4\text{ }\mu\text{l}$ 、 100 mmol/l DTT $2\text{ }\mu\text{l}$ および 10 mmol/l dNTP $1.2\text{ }\mu\text{l}$ を加え、ピペティングでよく混合した。 37°C で 2 分間保温し、アニーリングを行った後、SuperScript II リバーストランスクリプターゼ (ライフ・テクノロジーズ社製) を $5\text{ }\mu\text{l}$ 添加し、 44°C で 1 時間反応させて一本鎖 cDNA を合成した後、氷冷した。

反応後の溶液に蒸留水 $92.3\text{ }\mu\text{l}$ 、5×ハイブリダイズ緩衝液 [94 mmol/l トリス-塩酸 (pH 6.9)、 453 mmol/l 塩化カリウム、 23 mmol/l 塩化マグネシウム、 $750\text{ }\mu\text{mol/l}$ β -NAD、 50 mmol/l 硫酸アンモニウム] $32\text{ }\mu\text{l}$ 、 10 mmol/l dNTP $3\text{ }\mu\text{l}$ 、 100 mmol/l DTT $6\text{ }\mu\text{l}$ 、大腸菌 DNA リガーゼ (宝酒造社製) 15 単位 ($2.5\text{ }\mu\text{l}$)、大腸菌 DNA ポリメラーゼ I (宝酒造社製) 40 単位 ($11.5\text{ }\mu\text{l}$)、大腸菌 リボヌクレアーゼ H (宝酒造社製) 1.2 単位 ($2\text{ }\mu\text{l}$) の順序で試薬を加え、氷上でピペティングしてよく混合した後、 16°C で 2 時間 30 分反応させ、二本鎖 cDNA を合成した。なお、大腸菌 DNA リガーゼと大腸菌 リボヌクレアーゼ H は 1×反応用緩衝液で反応直前にそれぞれ原液を 6 単位/ μl 、0.6 単位/ μl に希釈して用いた。反応後、 0.5 mol/l EDTA $2\text{ }\mu\text{l}$ および 10% SDS $2\text{ }\mu\text{l}$ を添加して反応を停止させ、フェノール・クロロホルム抽出を行い水層を回収した。さらに TE $70\text{ }\mu\text{l}$ を水層を除いたフェノール・クロロホルム層に添加して抽出し、水層を先ほど回収した水層と合わせた。この水層にプロテインアーゼ K (2 mg/ml) を $12\text{ }\mu\text{l}$ 添加し、

42℃で1時間反応させた。反応後の液にフェノール-クロロホルム抽出を行って水層を回収後、TE 70 μ l を水層を除いたフェノール・クロロホルム層に添加して抽出し、水層を先ほど回収した水層と合わせた。

該水層をユニットフィルターウルトラフリーC 3 L TK (ミリポア社製)を用いて、濃縮脱塩操作を行った。すなわち、フィルターカップに水層をのせ、8000 rpmで5分間遠心分離し、DNAをフィルターに吸着させた。下部に移った溶液を除き、再度フィルターカップに蒸留水300 μ l をのせ、8000 rpmで5分間遠心分離し、フィルターを洗浄した。この洗浄操作をもう一度繰り返した後、フィルターカップに蒸留水25 μ l をのせ、ピペッティングにより懸濁してDNAを抽出した。フィルターカップを取り出し、遠心分離用チューブ (ファルコン2059) に逆さにして入れ、遠心分離して懸濁液をチューブ底に集めた。再度フィルターカップに蒸留水25 μ l をのせ、同様に回収した (計50 μ l)。

(2) - 2 RNAの合成と標識

上記のようにして得られた二本鎖cDNAからDIG RNAラベリングキット (ロシュ社製) を用いてDIG標識リボプローブを作製した。方法はロシュ社のDIGシステムユーザーガイドに従った。すなわちcDNA 1 μ g (蒸留水で14 μ l に調製する)、10×反応用緩衝液 (キットに添付されているもの) 2 μ l、NTPラベリングミックス (キットに添付されているもの、DIG-11-UTPを含む) 2 μ l およびT7 RNAポリメラーゼ (ロシュ社製) 2 μ l の計20 μ l をピペッティングにより混合した後、37℃で2時間反応させた。0.5 mol/l EDTA 0.8 μ l を添加し反応を停止させた後、4 mol/l 塩化リチウム2.3 μ l (反応液の1/9容量)、エタノール65 μ l (反応液の2.5~3倍容量) を添加し、-80℃で30分間 (または-20℃で一晩) おきRNAを沈殿させた。4℃で遠心分離後上清を除き、70%エタノールで洗浄後クリーンベンチ内で風乾し、蒸留水100 μ l に溶解した。合成されたりボプローブの収量は、ロシュ社のDIGシステムユーザーズガイドに従って、検定した。

(3) ハイブリダイゼーション

ハイブリダイゼーションおよびハイブリダイズしたスポットの検出の方法と試薬は全てロシュ社のDIGシステムユーザーズガイドに従った。

50℃に加温したハイブリダイゼーション緩衝液〔5×SSC、0.1%ラウロイルサルコシン酸ナトリウム、0.02%SDS、2%ブロッキング試薬(ロシュ社製)、50%ホルムアミド〕20mlに、95℃で5分間加熱後急冷したポリ(U) (アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製) 1mg (終濃度50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を添加し、ハイブリバッグ中にメンブレンと共に密封し、50℃で2時間プレハイブリダイゼーションを行った。一旦ハイブリダイゼーション緩衝液をチューブに移し、95℃で5分間加熱し急冷したりボプローブ5~6 μg (終濃度0.25~0.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$) をハイブリダイゼーション緩衝液に添加混合した後、ポリエチレンバッグに戻して再度密封した。50℃で1晩~3日間、バッグ内でフィルターが動く程度(約12 rpm)に振とうさせながらハイブリダイゼーションを行った。なお、(1)で同一のDNAをスポットした2枚のメンブレンを作製しているため、1枚はThy-1腎炎ラット腎臓のリボプローブ、1枚は対照群ラットの腎臓リボプローブとハイブリダイゼーションさせた。

(4) スポットの検出

メンブレンをハイブリバッグから取り出し、0.1%SDSを含有した2×SSCで68℃で10分間洗浄した後、洗浄液を新しくして、再度同じ条件で洗浄した。さらに0.1%SDSを含有した2×SSCで68℃で15分間洗浄する操作を2回繰り返した。

メンブレンを少量のバッファー1〔0.15mol/l NaCl、0.1mol/l マレイン酸、(pH 7.5)〕に1分間浸して平衡化した後、メンブレンが動く程度のバッファー2〔ブロッキング試薬(ロシュ社製)をバッファー1に最終濃度1%になるよう溶解したもの〕と共にポリエチレンバック中に密封し、1時間以上室温で緩やかに振とうし、ブロッキングした。ポリエチレンバッグ中のバッファー2をチューブに移し、アルカリフォスファターゼ標識抗DIG抗体Ant i-DIG-AP (ロシュ社製)を1万分の1容量添加して混和後、バッグに戻して再度密封し、室温で30分から1時間緩やかに振とうし反応させた。メンブレンをバッグから取り出し、0.3%トゥイーン(Tween) 20を添加したバッファー1で、15分間の振とう洗浄を2回繰り返した。開いたバッグ上でメンブレンを少量のバッファー3〔0.1mol/l Tris (pH 9.5)、0.1mol/l NaCl、50mmol/l MgCl_2 〕に2分間浸して平衡化した後、バッファー3で100倍希釈した発光性アルカリフォスファターゼ

基質CSPD（ロシュ社製）をメンブレン表面に100cm²あたり0.5～1.0ml乗せた。上からバッグをかぶせてはさみ、基質をメンブレン表面に均一に行き渡らせ、5分間反応させた。余分な水分を追い出してバッグを密封し、37℃で15分間反応させた後、X線フィルム ハイパーフィルムECL（アマシヤム・ファルマシア・バイオテック社製）を感光させ、現像した。感光時間は、Thy-1腎炎ラット腎臓のリボプロブ、対照群ラットの腎臓リボプロブとハイブリダイズしたものでバックグラウンドが同程度の濃度になるように調整した。

対照群ラットの腎臓リボプロブと比較してThy-1腎炎ラット腎臓リボプロブと強くハイブリダイズした454クローンを選択した。アレイの位置からクローンを特定し、各クローンをそれぞれ実施例3の（1）で調製したグリセロールストックから培養して、プラスミドDNAを調製した。

実施例4 塩基配列・発現解析

（1）塩基配列解析

実施例3のディファレンシャルハイブリダイゼーションによって選択された454クローンのcDNAの塩基配列を、DNAシーケンサーを用いて、まず末端からの塩基配列を解析した。この塩基配列について、解析プログラムBlastNを用いて、塩基配列データベースGenBank、EMBLおよびGeneSeq〔ダーウエント（Derwent）社製〕中の配列に対する相同性を調べた。なお、この解析の結果、454クローン中、オステオポンチン遺伝子のcDNAが148クローンを占めていることがわかり、Thy-1腎炎ラットの腎臓ではオステオポンチン遺伝子が大量に発現していることが示唆された。相同性解析の結果、新規な塩基配列であると考えられたクローンについては、cDNA全体の塩基配列を決定した。このようにして得られたThy-1腎炎ラットで発現が上昇している遺伝子の塩基配列を配列番号1、3、5、7、9、13、17～142に示した。得られたcDNAの塩基配列から、遺伝子がコードするポリペプチドのアミノ酸配列を推定し、さらに、このアミノ酸配列についても、解析プログラムBLASTを用いて、アミノ酸配列データベースSwissProt、PIR、GenPept、TREMBL、GeneSeq中の配列に対する相同性を調べた。

（2）発現解析

(1) で選択した 454 クローンから、新規な塩基配列のものを中心に興味深いクローンを選択し、それぞれの遺伝子の *Thy-1* 腎炎ラット腎臓における発現量の経時的な変動を RT-PCR 法によって対照群のラットと比較して調べた。鋳型としては、実施例 1 で調製した、抗 *Thy-1* 抗体 OX-7 投与後 2、4、6、8、10、13、16 日目のそれぞれのラットの腎臓の全 RNA、これらの全 RNA を等量ずつ混合したもの (*Thy-1* ミックスと呼ぶ) および生理食塩水投与対照群のラットの腎臓の全 RNA について、各 5 μ g から SUPERScript Preamplification System for First Strand cDNA Synthesis Kit (ライフ・テクノロジーズ社製) を用いて、キットのマニュアルに従って一本鎖 cDNA を合成し、最終的に 250 μ l の蒸留水に溶解させた。プライマーは、調べたいクローンの cDNA の一部の塩基配列をもとに、その cDNA に特異的な塩基配列を有するフォワードとリバースの 1 組の PCR 用プライマーをデザインして (フォワードプライマーは cDNA の 5' 側の一部の塩基配列と同じ塩基配列、リバースプライマーは cDNA の 3' 側の一部の塩基配列と相補的な塩基配列を有し、18~22 塩基の鎖長のものをデザインした。) 合成した。PCR の条件は、鋳型となるそれぞれの一本鎖 cDNA 1 μ l (全 RNA 20 ng に相当) について、10 \times 反応用緩衝液 (rTaq に添付されているもの) 2 μ l、2.5 mmol/l dNTP 2 μ l、10 μ mol/l フォワードプライマー 1 μ l、10 μ mol/l リバースプライマー 1 μ l、蒸留水 12.8 μ l、Taq DNA ポリメラーゼ rTaq (宝酒造社製) を添加し、PCR 用装置を用いて、94 $^{\circ}$ C で 5 分加熱後、94 $^{\circ}$ C 1 分 (変性) / X $^{\circ}$ C 1 分 (アニール) / 72 $^{\circ}$ C 1 分 (伸長反応) からなる反応サイクルを 20 回行い、4 $^{\circ}$ C で保存した。アニール温度 (X) は、プライマーにより至適な温度を選択した。反応後の溶液を一定量電気泳動し、増幅 DNA 断片を蛍光色素サイバークリーン (FMC BioProducts 社製) で染色し、フルオロイメジャー (モレキュラーダイナミクス社製) で増幅断片の量を測定した。コントロールとして、ハウスキーピング遺伝子であり各時期の *Thy-1* 腎炎ラット腎臓および対照群ラット腎臓においてほぼ一定の発現量を示すと考えられるグリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase、以下 G3PDH と呼ぶ) 遺伝子について、配列番号 162、163 に示す塩基配列のプライマーを用いて、それぞれの鋳型で同様に RT-PCR (アニール温度 58 $^{\circ}$ C) を行い、増幅断片量を測定し

た。各遺伝子の増幅断片の量を同じ鑄型について行ったG 3 P D H遺伝子の増幅断片の量で割って補正した量をもとにして、対照群ラットと各時期のT h y - 1腎炎ラットの比較をした。

その結果、T R D H - 1 1 0、T R D H - 1 2 2、T R D H - 2 9 2、T R D H - 3 4 4、T R D H - 2 7 1、T R D H - 2 8 4、T R D H - 3 6 3の7つの遺伝子について、T h y - 1腎炎ラット腎臓で発現が上昇していることがR T - P C Rによっても確認された。以下にこれらの遺伝子について記載する。

(3) T R D H - 2 7 1 遺伝子

T R D H - 2 7 1 遺伝子のc D N Aクローンの塩基配列（配列番号1に示した）を決定し、データベース中の配列との相同性を調べたところ、完全に一致する配列はなく新規な塩基配列であったが、マウスE S T中に非常に高い相同性を示すもの（アクセス番号A A 9 8 1 4 6 4など）が存在した。

配列番号1の塩基配列には、配列番号2に示す6 9 4アミノ酸からなるO R Fが存在し、T R D H - 2 7 1 遺伝子はこのアミノ酸配列を有する新規ポリペプチドをコードしていると考えられた。

配列番号1 4 5および1 4 6に塩基配列を示すP C Rプライマーを用いたR T - P C R（アニール温度6 0℃）の結果から、T R D H - 2 7 1 遺伝子は、抗体投与後2～1 6日目の全期間を通じて、対照群より1. 2～1. 6倍のやや高い発現量を示す遺伝子であった。なお、この遺伝子のR T - P C Rは、反応サイクル数を2 3回で行った。

(4) T R D H - 2 8 4 遺伝子

T R D H - 2 8 4 遺伝子のc D N Aクローンの塩基配列（配列番号3に示した）を決定し、データベース中の配列との相同性を調べたところ、完全に一致する配列はなく新規な塩基配列であったが、マウスE S T中に非常に高い相同性を示すもの（G e n B a n kアクセス番号A A 0 5 0 2 1 1など）が存在した。

配列番号3の塩基配列には、配列番号4に示す3 5 0アミノ酸からなるO R Fが存在し、T R D H - 2 8 4 遺伝子はこのアミノ酸配列を有する新規ポリペプチドをコードしていると考えられた。

配列番号1 4 7および1 4 8に塩基配列を示すP C Rプライマーを用いたR T - P C R（アニール温度6 0℃）の結果から、T R D H - 2 8 4 遺伝子は、抗体投与後4～1 6日目の期間で、対照群より1. 2～1. 9倍のやや高い発現量を

示す遺伝子であった。

(5) TRDH-363 遺伝子

TRDH-363 遺伝子の cDNA クローンの塩基配列 (配列番号 5 に示した) を決定し、データベース中の配列との相同性を調べたところ、完全に一致する配列はなく新規な塩基配列であったが、マウス EST およびヒト EST 中に非常に高い相同性をもつもの (GenBank アクセス番号 AA117617、AA315924 など) が存在した。

配列番号 5 の塩基配列は、配列番号 6 に示すアミノ酸配列をコードしており、TRDH-363 はこのアミノ酸配列を含む新規ポリペプチドをコードしていると考えられた。

配列番号 149 および 150 に塩基配列を示す PCR プライマーを用いた RT-PCR (アニール温度 64℃) の結果から、TRDH-363 遺伝子は、抗体投与後 2～16 日目の全期間で、対照群より 1.5～2.8 倍の高い発現量を示す遺伝子であった。

(6) TRDH-292 遺伝子 (分泌ポリペプチド遺伝子 2)

TRDH-292 遺伝子の cDNA クローンの塩基配列を決定し (配列番号 13 に塩基配列を示した。)、データベース中の配列との相同性を調べたところ、stromal cell derived factor-2 と相同性を有する推定ヒト分泌ポリペプチド遺伝子 2 (W098/39446; 配列番号 15) と 86% と高い相同性を示した。配列番号 16 にヒト分泌ポリペプチド遺伝子 2 がコードするアミノ酸配列を示した。したがって TRDH-292 遺伝子はラットにおける分泌ポリペプチド遺伝子 2 であると推定された。配列番号 13 の塩基配列がコードする 220 アミノ酸からなるポリペプチドのアミノ酸配列を配列番号 14 に示した。

配列番号 151 および 152 に塩基配列を示す PCR プライマーを用いた RT-PCR (アニール温度 60℃) の結果からは、TRDH-292 遺伝子は OX-7 投与後 2～16 日目の全期間にわたって対照群の 1.3～2 倍の発現量の上昇を示した。

(7) TRDH-344 遺伝子 (TSC-22 類似蛋白質-2)

TRDH-344 遺伝子の cDNA クローンの塩基配列 (配列番号 7 に示した) を決定し、データベース中の配列との相同性を調べたところ、ヒト TSC-22 類似蛋白質-2 の遺伝子 (W098/50425; 配列番号 159) と 78.8% と高い

相同性を示した。配列番号160にヒトTSC-22類似蛋白質-2のアミノ酸配列を示した。したがってTRDH-344遺伝子はラットにおけるTSC-22類似蛋白質-2遺伝子であると推定された。配列番号7の塩基配列がコードする150アミノ酸からなるラットTSC-22類似蛋白質-2のアミノ酸配列を配列番号8に示した。

配列番号143および144に塩基配列を示すPCRプライマーを用いたRT-PCR（アニール温度60℃）の結果から、TRDH-344遺伝子は、抗体投与後2～16日目の全期間を通じて、対照群より1.2～1.6倍のやや高い発現量を示す遺伝子であった。

(8) TRDH-122遺伝子 (mac25)

TRDH-122遺伝子のcDNAクローンの全塩基配列を決定し（配列番号157に塩基配列を示した。）、データベース中の配列との相同性を調べたところ、マウスmac25 [GenBankアクセス番号AB012886; Cell Growth & Differ., 4, 715 (1993)] あるいはヒトプロスタサイクリン産生刺激因子 (prostacyclin-stimulation factor, GenBankアクセス番号S75725; Biochem. J., 303, 591 (1994); 配列番号11] として報告されている遺伝子と80%以上の高い相同性を示すことから、TRDH-122遺伝子はラットのmac25遺伝子であると推定された。配列番号12にヒトプロスタサイクリン産生刺激因子すなわちヒトmac25のアミノ酸配列を示した。mac25はIGF結合蛋白質ファミリーであるIGFBP-7としても報告されており [J. Biol. Chem., 271, 30322 (1996)]、細胞の増殖の制御に関与していると考えられている。mac25はアクチビン結合能を有しており、癌細胞由来の細胞株であるHeLa、P19、Saos-2の増殖を、 10^{-7} mol/Lの濃度で阻害することが報告されている [Mol. Med., 6, 126 (2000)]。配列番号157に示したTRDH-122遺伝子のcDNAの塩基配列は、配列番号158に示すアミノ酸配列をコードしていた。

配列番号153および154に塩基配列を示すPCRプライマーを用いたRT-PCR（アニール温度58℃）の結果からは、TRDH-122遺伝子はOX-7投与後2～16日目の全期間にわたって対照群の2倍前後の発現量の上昇を示した。

(9) TRDH-110遺伝子 (α -2uグロブリン)

TRDH-110 遺伝子の cDNA の塩基配列を決定し、データベース中の配列との相同性を調べたところ、ラット α -2u グロブリン cDNA (GenBank アクセス番号 U31287) と一致することがわかった。ラット α -2u グロブリンは 162 アミノ酸 (シグナルペプチドを含む前駆体は 181 アミノ酸) からなる分泌ポリペプチドであり、ある種の腎毒性物質投与により雄性特異的に近位尿細管で毒性物質とガラス体を形成し、細胞増殖や腫瘍形成を引き起こすことが報告されている [Crit. Rev. Toxicol., 26, 309 (1996)] が、Thy-1 ラット腎炎における本遺伝子あるいはポリペプチドの発現量についての報告はされていない。ラット α -2u グロブリン cDNA の塩基配列を配列番号 9 に、アミノ酸配列を配列番号 10 に記載した。

配列番号 155 および 156 に塩基配列を示す PCR プライマーを用いた RT-PCR (アニール温度 62℃) の結果からは、 α -2u グロブリン遺伝子は OX-7 投与後 2 日目に対照群の 4.4 倍という非常に高い発現を示すが、4 日目は 2.3 倍、6 日目以降はほとんど発現がみられなくなり、一過的な発現パターンを示した。なお、RT-PCR の反応液は (2) の組成に 5% ジメチルスルホキシドを添加したものをを用いた。また、PCR の反応サイクルの変性も 94℃ でなく 95℃ で行った。

対照群ラット腎臓での発現量を 1 としたときの、Thy-1 腎炎ラット腎臓における、上記 7 遺伝子の相対的発現量の経時的変化を第 1 表に示した。

第1表 対照群ラット腎臓での発現量を1としたときの、Thy-1
腎炎ラット腎臓における各遺伝子の相対的発現量の経時的変化

遺伝子	全体*	2日	4日	6日	8日	10日	13日	16日
TRDH-271	1.14	0.97	1.66	1.49	1.30	1.83	1.84	2.32
TRDH-284	1.24	0.97	1.25	1.52	1.23	1.92	1.60	1.52
TRDH-363	1.44	1.76	1.48	2.22	1.84	1.74	1.98	2.83
TRDH-292	1.72	1.39	1.95	1.57	1.89	1.31	1.91	1.93
TRDH-344	1.30	1.18	1.63	1.25	1.32	1.49	1.62	1.36
TRDH-122	1.78	1.74	2.08	2.00	1.89	1.85	2.15	2.09
TRDH-110	14.64	43.79	2.33	0.16	0.24	0.00	0.00	-0.14

*：全体は、2、4、6、8、10、13および16日のサンプルを全て同量比で混合したものを示す。

産業上の利用可能性

本発明によれば、腎臓疾患において障害を受けた組織を積極的に修復するような治療薬の探索・開発に有用なポリペプチド、該ポリペプチドをコードするDNAおよび該ポリペプチドを認識する抗体、並びにこれらの利用法を提供することができる。

配列表フリーテキスト

配列番号143－人工配列の説明：TRDH-344 DNAの増幅用の正方向プライマー

配列番号144－人工配列の説明：TRDH-344 DNAの増幅用の逆方向プライマー

配列番号145－人工配列の説明：TRDH-271 DNAの増幅用の正方向プライマー

配列番号146－人工配列の説明：TRDH-271 DNAの増幅用の逆方向プライマー

配列番号147－人工配列の説明：TRDH-284 DNAの増幅用の正方向

プライマー

配列番号 1 4 8 - 人工配列の説明: TRDH-2 8 4 DNAの増幅用の逆方向
プライマー

配列番号 1 4 9 - 人工配列の説明: TRDH-3 6 3 DNAの増幅用の正方向
プライマー

配列番号 1 5 0 - 人工配列の説明: TRDH-3 6 3 DNAの増幅用の逆方向
プライマー

配列番号 1 5 1 - 人工配列の説明: TRDH-2 9 2 DNAの増幅用の正方向
プライマー

配列番号 1 5 2 - 人工配列の説明: TRDH-2 9 2 DNAの増幅用の逆方向
プライマー

配列番号 1 5 3 - 人工配列の説明: TRDH-1 2 2 DNAの増幅用の正方向
プライマー

配列番号 1 5 4 - 人工配列の説明: TRDH-1 2 2 DNAの増幅用の逆方向
プライマー

配列番号 1 5 5 - 人工配列の説明: TRDH-1 1 0 DNAの増幅用の正方向
プライマー

配列番号 1 5 6 - 人工配列の説明: TRDH-1 1 0 DNAの増幅用の逆方向
プライマー

配列番号 1 6 1 - 人工配列の説明: T 7 プロモーターとポリチミジル酸配列を有
するプライマー

配列番号 1 6 2 - 人工配列の説明: G 3 PDH DNAの増幅用の正方向プライ
マー

配列番号 1 6 3 - 人工配列の説明: G 3 PDH DNAの増幅用の逆方向プライ
マー

請求の範囲

1. 配列番号 2、4 および 6 に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする DNA。
2. 配列番号 1、3 および 5 に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有する DNA。
3. 配列番号 1、3 および 5 に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有する DNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ増殖性糸球体腎炎が発症した組織で発現量が増加する遺伝子を検出できる DNA。
4. 配列番号 1、3 および 5 に表わされる塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列中の連続した 5 ～ 60 塩基と同じ配列を有する DNA。
5. 配列番号 1、3 および 5 に表わされる塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有する DNA と相補的な配列を有する DNA。
6. 請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 つの DNA を用いて増殖性糸球体腎炎が発症した組織で発現量が増加する遺伝子の mRNA を検出する方法。
7. 請求項 1 ～ 5 いずれか 1 項に記載の DNA を含有する、腎疾患の診断薬。
8. 請求項 1 ～ 5 いずれか 1 項に記載の DNA を用いて腎疾患の原因遺伝子を検出する方法。
9. 請求項 1 ～ 5 いずれか 1 項に記載の DNA を用いて増殖性糸球体腎炎が発症した組織で発現量が増加する遺伝子の転写もしくは翻訳を抑制または促進する物質をスクリーニングする方法。
10. 請求項 1 ～ 5 いずれか 1 項に記載の DNA を用いて腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法。
11. 請求項 1 ～ 5 いずれか 1 項に記載の DNA を含有する、腎疾患の治療薬。
12. 請求項 1 ～ 5 いずれか 1 項に記載の DNA を含む組換えベクター。
13. 請求項 1 ～ 5 いずれか 1 項に記載の DNA のセンス鎖と相同な配列からなる RNA を含む組換えベクター。
14. 組換えベクターがウイルスベクターである、請求項 12 または 13 に記載のベクター。

15. 請求項12～14いずれか1項に記載の組換えベクターを含有する、腎疾患の治療薬。

16. 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAを用いて、増殖性糸球体腎炎が発症した組織で発現量が増加する遺伝子のmRNAを検出する方法。

17. 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAを含有する、腎疾患の診断薬。

18. 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAを用いて腎疾患の原因遺伝子を検出する方法。

19. 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAを用いて、増殖性糸球体腎炎が発症した組織で発現量が増加する遺伝子の転写もしくは翻訳を抑制または促進する物質をスクリーニングする方法。

20. 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21

、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33
、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45
、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57
、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69
、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81
、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93
、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、1
04、105、106、107、108、109、110、111、112、1
13、114、115、116、117、118、119、120、121、1
22、123、124、125、126、127、128、129、130、1
31、132、133、134、135、136、137、138、139、1
40、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より
選ばれる塩基配列を有するDNAを用いて、腎疾患の治療薬をスクリーニングす
る方法。

21. 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21
、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33
、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45
、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57
、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69
、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81
、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93
、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、1
04、105、106、107、108、109、110、111、112、1
13、114、115、116、117、118、119、120、121、1
22、123、124、125、126、127、128、129、130、1
31、132、133、134、135、136、137、138、139、1
40、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より
選ばれる塩基配列を有するDNAを含有する、腎疾患の治療薬。

22. 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21
、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33
、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45

、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAを含む組換えベクター。

23. 配列番号7、9、11、13、15、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、157および159に表される塩基配列からなる群より選ばれる塩基配列を有するDNAのセンス鎖と相同な配列からなるRNAを含む組換えベクター。

24. 組換えベクターがウイルスベクターである、請求項22または23に記載のベクター。

25. 請求項22～24いずれか1項に記載の組換えベクターを含有する、腎疾患の治療薬。

26. 請求項1または2に記載のDNAによりコードされるポリペプチド。

27. 配列番号 2、4 および 6 に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチド。

28. 請求項 26 または 27 記載のポリペプチドの有するアミノ酸配列において 1 以上のアミノ酸が欠失、置換または付加したアミノ酸配列からなり、かつ障害を受けた腎臓の修復に関与する活性を有するポリペプチド。

29. 請求項 26 ～ 28 いずれか 1 項に記載のポリペプチドをコードする DNA をベクターに組み込んで得られる組換え体 DNA。

30. 請求項 29 記載の組換え体 DNA を宿主細胞に導入して得られる形質転換体。

31. 請求項 30 記載の形質転換体を培地に培養し、培養物中に請求項 26 ～ 28 いずれか 1 項に記載のポリペプチドを生成蓄積させ、該培養物から該ポリペプチドを採取することを特徴とするポリペプチドの製造方法。

32. 請求項 30 記載の形質転換体を培地に培養し、得られる培養物を用いて腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法。

33. 請求項 26 ～ 28 いずれか 1 項に記載のポリペプチドを用いて、腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法。

34. 請求項 26 ～ 28 いずれか 1 項に記載のポリペプチドを含有する、腎疾患の治療薬。

35. 請求項 26 ～ 28 いずれか 1 項に記載のポリペプチドを認識する抗体。

36. 請求項 35 記載の抗体を用いる、請求項 26 ～ 28 いずれか 1 項に記載のポリペプチドの免疫学的検出方法。

37. 請求項 35 記載の抗体を用いて、腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法。

38. 請求項 35 記載の抗体を用いて、増殖性糸球体腎炎を発症した組織で発現量が増加する遺伝子の転写もしくは翻訳を抑制または促進する物質をスクリーニングする方法。

39. 請求項 35 記載の抗体を含有する、腎疾患の診断薬。

40. 請求項 35 記載の抗体を含有する、腎疾患の治療薬。

41. 請求項 35 記載の抗体と放射性同位元素、ポリペプチドおよび低分子化合物から選ばれる薬剤とを結合させた融合抗体を腎臓障害部位へ誘導するドラ

ッグデリバリー法。

42. 配列番号 8、10、12、14、16、158 および 160 に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする DNA をベクターに組み込んで得られる組換え体 DNA。

43. 請求項 42 記載の組換え体 DNA を宿主細胞に導入して得られる形質転換体を培地に培養し、得られる培養物を用いて腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法。

44. 配列番号 8、10、12、14、16、158 および 160 に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドを用いて、腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法。

45. 配列番号 8、10、12、14、16、158 および 160 に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含有する、腎疾患の治療薬。

46. 配列番号 8、10、12、14、16、158 および 160 に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドを認識する抗体を用いて、腎疾患の治療薬をスクリーニングする方法。

47. 配列番号 8、10、12、14、16、158 および 160 に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドを認識する抗体を用いて、増殖性糸球体腎炎を発症発した組織で発現量が増加する遺伝子の転写もしくは翻訳を抑制または促進する物質をスクリーニングする方法。

48. 配列番号 8、10、12、14、16、158 および 160 に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドを認識する抗体を含有する、腎疾患の診断薬。

49. 配列番号 8、10、12、14、16、158 および 160 に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドを認識する抗体を含有する、腎疾患の治療薬。

50. 配列番号 8、10、12、14、16、158 および 160 に表されるアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチドを認識する抗体と放射性同位元素、ポリペプチドおよび低分子化合物から選ばれる薬剤とを結合させた融合抗体を腎臓障害部位へ誘導するドラッグデリバリー法。

1/219

SEQUENCE LISTING

<110> KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD

<120> Novel DNAs related to proliferative glomerulonephritis

<130> 11292

<140>

<141>

<150> JP 2000/90137

<151> 2000-03-29

<160> 163

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 2470

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> CDS

<222> (79).. (2160)

<400> 1

ggcggggatc tgcgcggcgg cggaggcggg acctctggca tcagtagcac cgtgagccca 60

gacattcctc tctgagtc atg acg gat gcc aag tat gtc ctc tgc cga tgg 111

2/219

Met Thr Asp Ala Lys Tyr Val Leu Cys Arg Trp

1

5

10

gag aag cga ctg tgg cct gca aag gtt ttg gcc aga act gag act tca 159

Glu Lys Arg Leu Trp Pro Ala Lys Val Leu Ala Arg Thr Glu Thr Ser

15

20

25

gca aaa aac aag aga aaa aag gaa ttc ttt cta gat gtt caa ata ctc 207

Ala Lys Asn Lys Arg Lys Lys Glu Phe Phe Leu Asp Val Gln Ile Leu

30

35

40

tca cta aag gaa aag atc cag gtt aag agc tca gcc gtg gag gca ctg 255

Ser Leu Lys Glu Lys Ile Gln Val Lys Ser Ser Ala Val Glu Ala Leu

45

50

55

cag aag tca cac att gag aac att gcc gcc ttc ttg gcc tct cag aat 303

Gln Lys Ser His Ile Glu Asn Ile Ala Ala Phe Leu Ala Ser Gln Asn

60

65

70

75

gaa gtc cca gct act cct ctg gag gag ctg act tac cga cgg tcc ctg 351

Glu Val Pro Ala Thr Pro Leu Glu Glu Leu Thr Tyr Arg Arg Ser Leu

80

85

90

cga gtg gcc ctg gat gtc ttg aac gag agg acc agt ttg agt cct gaa 399

Arg Val Ala Leu Asp Val Leu Asn Glu Arg Thr Ser Leu Ser Pro Glu

95

100

105

agt cat cca gtc gaa aat ggg agc aca cca tct cag aag ggc aag cca 447

Ser His Pro Val Glu Asn Gly Ser Thr Pro Ser Gln Lys Gly Lys Pro

110

115

120

3/219

gat gca gat gtg gcc tcg cgg gtc tct agt gct cct tct cca tct ttt 495
 Asp Ala Asp Val Ala Ser Arg Val Ser Ser Ala Pro Ser Pro Ser Phe

125

130

135

ctc agt gaa gat gat cag gct gtg gca gcc cag tgt gca tcc aag agg 543
 Leu Ser Glu Asp Asp Gln Ala Val Ala Ala Gln Cys Ala Ser Lys Arg

140

145

150

155

agg tgg gag tgc agt cca aaa agc ctg tcg ccg ttg tct gcc tcg gaa 591
 Arg Trp Glu Cys Ser Pro Lys Ser Leu Ser Pro Leu Ser Ala Ser Glu

160

165

170

gag gat ctc agg tgc aaa gtg gac ccc aag aca ggc ctc tca gag agt 639
 Glu Asp Leu Arg Cys Lys Val Asp Pro Lys Thr Gly Leu Ser Glu Ser

175

180

185

gga gcc ctg ggg act gaa gtg cct gcc ccc act ggg gat gag tct cag 687
 Gly Ala Leu Gly Thr Glu Val Pro Ala Pro Thr Gly Asp Glu Ser Gln

190

195

200

aat ggc tct ggg tca cag ctg gac cat gga cag gag agc aca acc aaa 735
 Asn Gly Ser Gly Ser Gln Leu Asp His Gly Gln Glu Ser Thr Thr Lys

205

210

215

aag aga cag agg aat tcg gga gag aaa cct gcc cgg cgt gga aaa gca 783
 Lys Arg Gln Arg Asn Ser Gly Glu Lys Pro Ala Arg Arg Gly Lys Ala

220

225

230

235

gag tct ggc ctt tcc aag gga gac agt gtc gca gag agc gga gga cag 831
 Glu Ser Gly Leu Ser Lys Gly Asp Ser Val Ala Glu Ser Gly Gly Gln

240

245

250

4/219

gca agc agc tgt gtg gcc ctg gct tca ccc agg ctg ccc tcc caa acc 879

Ala Ser Ser Cys Val Ala Leu Ala Ser Pro Arg Leu Pro Ser Gln Thr

255

260

265

tgg gag ggg gat cca tgt gct gga gtc gaa ggc tgt gac cca gtt gag 927

Trp Glu Gly Asp Pro Cys Ala Gly Val Glu Gly Cys Asp Pro Val Glu

270

275

280

tca tct ggc aac atc agg ccg ctt ctg gac tct gag aga agc aaa gga 975

Ser Ser Gly Asn Ile Arg Pro Leu Leu Asp Ser Glu Arg Ser Lys Gly

285

290

295

cgc ctc aca aag agg cca cgc ttg gac gga ggc cgg aac cca ctg ccc 1023

Arg Leu Thr Lys Arg Pro Arg Leu Asp Gly Gly Arg Asn Pro Leu Pro

300

305

310

315

aga cat cta gga acc aga act gtg ggg gca gtg ccc tcc cgt agg agc 1071

Arg His Leu Gly Thr Arg Thr Val Gly Ala Val Pro Ser Arg Arg Ser

320

325

330

tgc tct ggg gag gtc acg acg ctg cgc agg gct gga gac agt gac aga 1119

Cys Ser Gly Glu Val Thr Thr Leu Arg Arg Ala Gly Asp Ser Asp Arg

335

340

345

cca gag gaa gat cct atg tct tca gaa gaa tct aca ggg ttc aag tcc 1167

Pro Glu Glu Asp Pro Met Ser Ser Glu Glu Ser Thr Gly Phe Lys Ser

350

355

360

gtc cac tcc ctg ctg gag gag gag gag gag gag gag gaa gag gag gag 1215

[illegible]

5/219

365	370	375	
gaa cca ccc cgg atc ctt ctg tat cac gaa cca cga tca ttt gaa gta 1263			
Glu Pro Pro Arg Ile Leu Leu Tyr His Glu Pro Arg Ser Phe Glu Val			
380	385	390	395
gga atg ctg gtc tgg ctt aaa tac caa aaa tac cca ttc tgg cca gcc 1311			
Gly Met Leu Val Trp Leu Lys Tyr Gln Lys Tyr Pro Phe Trp Pro Ala			
	400	405	410
gtg gtc aag agt gtc cgg cgg agg gac aag aag gcc agt gtg ctc ttc 1359			
Val Val Lys Ser Val Arg Arg Arg Asp Lys Lys Ala Ser Val Leu Phe			
	415	420	425
att gag ggc aac atg aat ccc aag ggc cga gga atc acc gtg tcg ctg 1407			
Ile Glu Gly Asn Met Asn Pro Lys Gly Arg Gly Ile Thr Val Ser Leu			
	430	435	440
cga cgg ctc aag cac ttt gac tgc aag gaa aag cat gca cta ctg gac 1455			
Arg Arg Leu Lys His Phe Asp Cys Lys Glu Lys His Ala Leu Leu Asp			
	445	450	455
aga gcc aaa gag gac ttt gcc cag gct att ggc tgg tgt gtc tcg ctt 1503			
Arg Ala Lys Glu Asp Phe Ala Gln Ala Ile Gly Trp Cys Val Ser Leu			
460	465	470	475
atc act gac tac cgc gtg cgg ctg ggc tgc ggc tcc ttc gcc ggg tcg 1551			
Ile Thr Asp Tyr Arg Val Arg Leu Gly Cys Gly Ser Phe Ala Gly Ser			
	480	485	490
ttc ttg gaa tat tac gct gct gat atc agc tat cct gtg cgc aag tct 1599			

6/219

Phe Leu Glu Tyr Tyr Ala Ala Asp Ile Ser Tyr Pro Val Arg Lys Ser

495

500

505

atc caa cag gac gtc ctg ggg acc agg ttt cct cag ctg ggc aag ggg 1647

Ile Gln Gln Asp Val Leu Gly Thr Arg Phe Pro Gln Leu Gly Lys Gly

510

515

520

gac cct gag gag cct atg ggg gac agc cgg ctg gga cag tgg cgg cca 1695

Asp Pro Glu Glu Pro Met Gly Asp Ser Arg Leu Gly Gln Trp Arg Pro

525

530

535

tgc agg aag gtg ctg cct gac cgc tcc agg gct gcc cgg gat aaa gcc 1743

Cys Arg Lys Val Leu Pro Asp Arg Ser Arg Ala Ala Arg Asp Lys Ala

540

545

550

555

aac cag aag ctg gtg gag tac atc gtg aag gcc aag ggt gca gag agc 1791

Asn Gln Lys Leu Val Glu Tyr Ile Val Lys Ala Lys Gly Ala Glu Ser

560

565

570

cac ctg cgg gct atc ctg cac agc cgc aag ccc tca cgc tgg ctg aag 1839

His Leu Arg Ala Ile Leu His Ser Arg Lys Pro Ser Arg Trp Leu Lys

575

580

585

acg ttc ctg agc tcc aat cag tac gtg aca tgc atg gag acg tac ctg 1887

Thr Phe Leu Ser Ser Asn Gln Tyr Val Thr Cys Met Glu Thr Tyr Leu

590

595

600

gag gat gag gcg cag ctg gat gag gtg gtg gag tac ctg cag ggc gtc 1935

Glu Asp Glu Ala Gln Leu Asp Glu Val Val Glu Tyr Leu Gln Gly Val

605

610

615

7/219

tgc cga gac atg gat ggc gag atg cct gcg cgc ggc agc ggc gac cgc 1983
 Cys Arg Asp Met Asp Gly Glu Met Pro Ala Arg Gly Ser Gly Asp Arg
 620 625 630 635

atc cgt ttc atc ctg gat gtg ctg ctg cct gag gcg atc atc tgc gcc 2031
 Ile Arg Phe Ile Leu Asp Val Leu Leu Pro Glu Ala Ile Ile Cys Ala
 640 645 650

atc tcg gca gtg gag gca gtg gac tac aag aca gcc gag cag aag tac 2079
 Ile Ser Ala Val Glu Ala Val Asp Tyr Lys Thr Ala Glu Gln Lys Tyr
 655 660 665

ctc cgt ggc ccc aca ctc agc tac cgg gaa aag gaa atc ttt gac aat 2127
 Leu Arg Gly Pro Thr Leu Ser Tyr Arg Glu Lys Glu Ile Phe Asp Asn
 670 675 680

gaa ctc ctg gag gag agg aac cgt cgc cgt cgc tgatgccgta gtctccacct 2180
 Glu Leu Leu Glu Glu Arg Asn Arg Arg Arg Arg
 685 690

ggccagcacc gigtctgtgg cctgccagag gcctgtgaga atgtgctaga agcaagaggc 2240

ctagtaatgt gctgactiig atcigtgcat gggttctgcg tcttcagccc tgagcctggg 2300

agatcagagg ccatcttcac actagaagac tgctgcatct atgaacagct gcttctggaa 2360

gtttcigtgt gtgtacgcgt gtatgtttgg tttattttt ttaattatta ttttgtttat 2420

aaatgcgttt gaatgcaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2470

8/219

<210> 2

<211> 694

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 2

Met Thr Asp Ala Lys Tyr Val Leu Cys Arg Trp Glu Lys Arg Leu Trp

1 5 10 15

Pro Ala Lys Val Leu Ala Arg Thr Glu Thr Ser Ala Lys Asn Lys Arg

20 25 30

Lys Lys Glu Phe Phe Leu Asp Val Gln Ile Leu Ser Leu Lys Glu Lys

35 40 45

Ile Gln Val Lys Ser Ser Ala Val Glu Ala Leu Gln Lys Ser His Ile

50 55 60

Glu Asn Ile Ala Ala Phe Leu Ala Ser Gln Asn Glu Val Pro Ala Thr

65 70 75 80

Pro Leu Glu Glu Leu Thr Tyr Arg Arg Ser Leu Arg Val Ala Leu Asp

85 90 95

Val Leu Asn Glu Arg Thr Ser Leu Ser Pro Glu Ser His Pro Val Glu

100 105 110

Asn Gly Ser Thr Pro Ser Gln Lys Gly Lys Pro Asp Ala Asp Val Ala

115 120 125

Ser Arg Val Ser Ser Ala Pro Ser Pro Ser Phe Leu Ser Glu Asp Asp

9/219

130	135	140
Gln Ala Val Ala Ala Gln Cys Ala Ser Lys Arg Arg Trp Glu Cys Ser		
145	150	155 160
Pro Lys Ser Leu Ser Pro Leu Ser Ala Ser Glu Glu Asp Leu Arg Cys		
165	170	175
Lys Val Asp Pro Lys Thr Gly Leu Ser Glu Ser Gly Ala Leu Gly Thr		
180	185	190
Glu Val Pro Ala Pro Thr Gly Asp Glu Ser Gln Asn Gly Ser Gly Ser		
195	200	205
Gln Leu Asp His Gly Gln Glu Ser Thr Thr Lys Lys Arg Gln Arg Asn		
210	215	220
Ser Gly Glu Lys Pro Ala Arg Arg Gly Lys Ala Glu Ser Gly Leu Ser		
225	230	235 240
Lys Gly Asp Ser Val Ala Glu Ser Gly Gly Gln Ala Ser Ser Cys Val		
245	250	255
Ala Leu Ala Ser Pro Arg Leu Pro Ser Gln Thr Trp Glu Gly Asp Pro		
260	265	270
Cys Ala Gly Val Glu Gly Cys Asp Pro Val Glu Ser Ser Gly Asn Ile		
275	280	285
Arg Pro Leu Leu Asp Ser Glu Arg Ser Lys Gly Arg Leu Thr Lys Arg		
290	295	300

10/219

Pro Arg Leu Asp Gly Gly Arg Asn Pro Leu Pro Arg His Leu Gly Thr
305 310 315 320

Arg Thr Val Gly Ala Val Pro Ser Arg Arg Ser Cys Ser Gly Glu Val
325 330 335

Thr Thr Leu Arg Arg Ala Gly Asp Ser Asp Arg Pro Glu Glu Asp Pro
340 345 350

Met Ser Ser Glu Glu Ser Thr Gly Phe Lys Ser Val His Ser Leu Leu
355 360 365

Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Pro Pro Arg Ile
370 375 380

Leu Leu Tyr His Glu Pro Arg Ser Phe Glu Val Gly Met Leu Val Trp
385 390 395 400

Leu Lys Tyr Gln Lys Tyr Pro Phe Trp Pro Ala Val Val Lys Ser Val
405 410 415

Arg Arg Arg Asp Lys Lys Ala Ser Val Leu Phe Ile Glu Gly Asn Met
420 425 430

Asn Pro Lys Gly Arg Gly Ile Thr Val Ser Leu Arg Arg Leu Lys His
435 440 445

Phe Asp Cys Lys Glu Lys His Ala Leu Leu Asp Arg Ala Lys Glu Asp
450 455 460

11/219

Phe Ala Gln Ala Ile Gly Trp Cys Val Ser Leu Ile Thr Asp Tyr Arg
465 470 475 480

Val Arg Leu Gly Cys Gly Ser Phe Ala Gly Ser Phe Leu Glu Tyr Tyr
485 490 495

Ala Ala Asp Ile Ser Tyr Pro Val Arg Lys Ser Ile Gln Gln Asp Val
500 505 510

Leu Gly Thr Arg Phe Pro Gln Leu Gly Lys Gly Asp Pro Glu Glu Pro
515 520 525

Met Gly Asp Ser Arg Leu Gly Gln Trp Arg Pro Cys Arg Lys Val Leu
530 535 540

Pro Asp Arg Ser Arg Ala Ala Arg Asp Lys Ala Asn Gln Lys Leu Val
545 550 555 560

Glu Tyr Ile Val Lys Ala Lys Gly Ala Glu Ser His Leu Arg Ala Ile
565 570 575

Leu His Ser Arg Lys Pro Ser Arg Trp Leu Lys Thr Phe Leu Ser Ser
580 585 590

Asn Gln Tyr Val Thr Cys Met Glu Thr Tyr Leu Glu Asp Glu Ala Gln
595 600 605

Leu Asp Glu Val Val Glu Tyr Leu Gln Gly Val Cys Arg Asp Met Asp
610 615 620

Gly Glu Met Pro Ala Arg Gly Ser Gly Asp Arg Ile Arg Phe Ile Leu

12/219

625 630 635 640

Asp Val Leu Leu Pro Glu Ala Ile Ile Cys Ala Ile Ser Ala Val Glu
645 650 655

Ala Val Asp Tyr Lys Thr Ala Glu Gln Lys Tyr Leu Arg Gly Pro Thr
660 665 670

Leu Ser Tyr Arg Glu Lys Glu Ile Phe Asp Asn Glu Leu Leu Glu Glu
675 680 685

Arg Asn Arg Arg Arg Arg
690

 $\langle 210 \rangle$ 3

1585

⟨212⟩ DNA

⟨213⟩ *Rattus norvegicus*

 $\langle 220 \rangle$

$\langle 221 \rangle$ CDS

$\langle 222 \rangle$ (48) .. (1097)

 $\langle 400 \rangle$ 3

accggaagtt gtatcgaggc ttccgcacat ggatacttct ggagaac atg cca ctg 56
Met Pro Leu

1

gtc gtg gtt tgc ggg ctg ccg tcc agc ggc aag agc cgg cgt acg gaa 104
Val Val Val Cys Gly Leu Pro Ser Ser Gly Lys Ser Arg Arg Thr Glu

13/219

5	10	15	
gag tta cgt cgg gcg ctg acc ggc gag gga cgt tgc gtg tat gtg gtg			152
Glu Leu Arg Arg Ala Leu Thr Gly Glu Gly Arg Ser Val Tyr Val Val			
20	25	30	35
gac gat gct tgc gtg ctg ggc gcg cag gat tcc act gtg tac ggc gac			200
Asp Asp Ala Ser Val Leu Gly Ala Gln Asp Ser Thr Val Tyr Gly Asp			
	40	45	50
tct gcg ggt gag aag gcg cta cgt gct gcg ctg cgg gcc gcg gta gag			248
Ser Ala Gly Glu Lys Ala Leu Arg Ala Ala Leu Arg Ala Ala Val Glu			
	55	60	65
cgg cgc ctg agc cgg cag gac gtg gtc atc cta gac tcc atg aac tac			296
Arg Arg Leu Ser Arg Gln Asp Val Val Ile Leu Asp Ser Met Asn Tyr			
	70	75	80
atc aag ggg ttc cgc tac gag ttg tac tgc ctt gcg cga gct gtg cgc			344
Ile Lys Gly Phe Arg Tyr Glu Leu Tyr Cys Leu Ala Arg Ala Val Arg			
	85	90	95
acg ccg ctc tgc tta gtt tac tgc ata agg ccc ggc tgg cca agc cgc			392
Thr Pro Leu Cys Leu Val Tyr Cys Ile Arg Pro Gly Trp Pro Ser Arg			
100	105	110	115
ggg ctt ccg gtg cct ggc gcc tgc gag agc tgc gac ccg gct gtc agt			440
Gly Leu Pro Val Pro Gly Ala Cys Glu Ser Ser Asp Pro Ala Val Ser			
	120	125	130
gtg agc tgg agg ccg cgc gcc gac tac ggc gag aag act cag gcg gtc			488

14/219

Val Ser Trp Arg Pro Arg Ala Asp Tyr Gly Glu Lys Thr Gln Ala Val

135

140

145

ggc gct gta gag cag cgc gcc atc agc ccc tta gca aat ggg gga gtc 536

Gly Ala Val Glu Gln Arg Ala Ile Ser Pro Leu Ala Asn Gly Gly Val

150

155

160

ccg acc gct gtc ccc aag gaa ctg gat cca aag gat atc ctg cca tca 584

Pro Thr Ala Val Pro Lys Glu Leu Asp Pro Lys Asp Ile Leu Pro Ser

165

170

175

aat cct cca gct gta atg act ccg gaa tcc gag aaa tct gca gag cct 632

Asn Pro Pro Ala Val Met Thr Pro Glu Ser Glu Lys Ser Ala Glu Pro

180

185

190

195

gcg cca tgt gcc ttt cct ccc gaa ctt ttg gag tcc tta gcg ctg cgc 680

Ala Pro Cys Ala Phe Pro Pro Glu Leu Leu Glu Ser Leu Ala Leu Arg

200

205

210

ttt gaa gct ccc gac tct cgg aac cgc tgg gat cga ccc ttg ttc acc 728

Phe Glu Ala Pro Asp Ser Arg Asn Arg Trp Asp Arg Pro Leu Phe Thr

215

220

225

gtg gtg ggt tta gaa gag cca ttg ccc ctg gct gag atc cgg tct gca 776

Val Val Gly Leu Glu Glu Pro Leu Pro Leu Ala Glu Ile Arg Ser Ala

230

235

240

ctg ttc gag aat cgg gct ccc cca ccc cat cag tct aca cag tcc cag 824

Leu Phe Glu Asn Arg Ala Pro Pro Pro His Gln Ser Thr Gln Ser Gln

245

250

255

15/219

ccc ctg gcc tct ggc agc ttt cta cac cag ttg gat cag gcc acg agc 872

Pro Leu Ala Ser Gly Ser Phe Leu His Gln Leu Asp Gln Ala Thr Ser

260

265

270

275

cag gtg ttg act gct gtg atg gaa aca cag aag agc gct gta ccc gga 920

Gln Val Leu Thr Ala Val Met Glu Thr Gln Lys Ser Ala Val Pro Gly

280

285

290

gac tta cta acg ctt cct ggc acc acg gag cac ctc cga ttt acc cgt 968

Asp Leu Leu Thr Leu Pro Gly Thr Thr Glu His Leu Arg Phe Thr Arg

295

300

305

ccc ttg acc ttg gca gaa ttg agt cgc ctc cgt cgc cag ttt att tcc 1016

Pro Leu Thr Leu Ala Glu Leu Ser Arg Leu Arg Arg Gln Phe Ile Ser

310

315

320

tac act aaa atg cat ccc aac aat gag aac ctg cct caa ttg gcc aac 1064

Tyr Thr Lys Met His Pro Asn Asn Glu Asn Leu Pro Gln Leu Ala Asn

325

330

335

atg ttt ctt cag tat ctg aac cag agt ttg cac taatgggata gtggctctgca 1117

Met Phe Leu Gln Tyr Leu Asn Gln Ser Leu His

340

345

350

gcggtggctc ttgtctgaat tccccgttac ttgggctagg aaaaatagtc cgaaggctctg 1177

caaagcgcac tgtagtactg agatgctaaa ttgactcat ttctttaact gcctctgccca 1237

taccctgagt gtgctgcata agctgaggca ttgagcacca gctccaaaaa taccaggtgg 1297

cttcggttgg aatctacttg gggattcttc atacactgtt ttcttttcat cgggacggag 1357

16/219

aattgttaag tcaactgtga gtagaaaccg aagataacag ttttgtatTT atgatggccc 1417
tttcatacta caaatacttt tgagcacagt gcctcttgct atctatcctg gaacttcgaa 1477
cacagataaa tcttgttctg cccctgggaa actgatattt gtataagaca gccattagat 1537
atttcctcta ataaaatctt ctaaaattaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1585

<210> 4

<211> 350

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 4

Met Pro Leu Val Val Val Cys Gly Leu Pro Ser Ser Gly Lys Ser Arg

1

5

10

15

Arg Thr Glu Glu Leu Arg Arg Ala Leu Thr Gly Glu Gly Arg Ser Val

20

25

30

Tyr Val Val Asp Asp Ala Ser Val Leu Gly Ala Gln Asp Ser Thr Val

35

40

45

Tyr Gly Asp Ser Ala Gly Glu Lys Ala Leu Arg Ala Ala Leu Arg Ala

50

55

60

Ala Val Glu Arg Arg Leu Ser Arg Gln Asp Val Val Ile Leu Asp Ser

65

70

75

80

17/219

Met Asn Tyr Ile Lys Gly Phe Arg Tyr Glu Leu Tyr Cys Leu Ala Arg

85

90

95

Ala Val Arg Thr Pro Leu Cys Leu Val Tyr Cys Ile Arg Pro Gly Trp

100

105

110

Pro Ser Arg Gly Leu Pro Val Pro Gly Ala Cys Glu Ser Ser Asp Pro

115

120

125

Ala Val Ser Val Ser Trp Arg Pro Arg Ala Asp Tyr Gly Glu Lys Thr

130

135

140

Gln Ala Val Gly Ala Val Glu Gln Arg Ala Ile Ser Pro Leu Ala Asn

145

150

155

160

Gly Gly Val Pro Thr Ala Val Pro Lys Glu Leu Asp Pro Lys Asp Ile

165

170

175

Leu Pro Ser Asn Pro Pro Ala Val Met Thr Pro Glu Ser Glu Lys Ser

180

185

190

Ala Glu Pro Ala Pro Cys Ala Phe Pro Pro Glu Leu Leu Glu Ser Leu

195

200

205

Ala Leu Arg Phe Glu Ala Pro Asp Ser Arg Asn Arg Trp Asp Arg Pro

210

215

220

Leu Phe Thr Val Val Gly Leu Glu Glu Pro Leu Pro Leu Ala Glu Ile

225

230

235

240

Arg Ser Ala Leu Phe Glu Asn Arg Ala Pro Pro Pro His Gln Ser Thr

18/219

245

250

255

Gln Ser Gln Pro Leu Ala Ser Gly Ser Phe Leu His Gln Leu Asp Gln

260

265

270

Ala Thr Ser Gln Val Leu Thr Ala Val Met Glu Thr Gln Lys Ser Ala

275

280

285

Val Pro Gly Asp Leu Leu Thr Leu Pro Gly Thr Thr Glu His Leu Arg

290

295

300

Phe Thr Arg Pro Leu Thr Leu Ala Glu Leu Ser Arg Leu Arg Arg Gln

305

310

315

320

Phe Ile Ser Tyr Thr Lys Met His Pro Asn Asn Glu Asn Leu Pro Gln

325

330

335

Leu Ala Asn Met Phe Leu Gln Tyr Leu Asn Gln Ser Leu His

340

345

<210> 5

<211> 1879

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> CDS

<222> (343).. (1410)

<400> 5

19/219

ctagccccggg caggccccggc gggggggggcg ttgaccttgc gggcgggtcaa accggccacc 60
 cgtttttccc tggcgggtggc gctcgggagt ctgggtgggg gccicggagc cagggggccac 120
 ggactgcatc acggtagaga gattcgcgag cctcaggcga gggacgcaac ctccagctcc 180
 gcggagaccg agggiggcca cgtccaggga catctccgtt tcattcattg ggttcctact 240
 gtgtgctctt atacggcgct cagccagccc aactgatgtg gagcgctgtg cgcggccctg 300
 ctaggcttct ttgtggatgg ccggggcgag gtctcttca ct atg gcc cgg cgt 354
 Met Ala Arg Arg
 1
 gca cgg agt agc agg gca tgg cac ttt gtc ctg agt gca gca cgc cga 402
 Ala Arg Ser Ser Arg Ala Trp His Phe Val Leu Ser Ala Ala Arg Arg
 5 10 15 20
 gat aca gat gct cga gct gtg gct ctg gca ggc aac tct aac tgg ggc 450
 Asp Thr Asp Ala Arg Ala Val Ala Leu Ala Gly Asn Ser Asn Trp Gly
 25 30 35
 tac gac tct gat ggg cag cac agc gac tcc gac tct gac cct gag tac 498
 Tyr Asp Ser Asp Gly Gln His Ser Asp Ser Asp Ser Asp Pro Glu Tyr
 40 45 50
 tct tcc ctg cca cca tcc atc ccc agt gct gtg cct gtg aca gga gag 546
 Ser Ser Leu Pro Pro Ser Ile Pro Ser Ala Val Pro Val Thr Gly Glu
 55 60 65
 tcc ttc tgt gac tgt gag ggc cag aat gag gct acc ttc tgc aac agt 594

80

100

115

130

145

160

180

195

21/219

tac acg ggg ctc ctc cac cac aaa ggc gac aag acg agc ttc tct tca 978

Tyr Thr Gly Leu Leu His His Lys Gly Asp Lys Thr Ser Phe Ser Ser

200

205

210

cgc ttc ggc cag ggc tct atc att ggc gta cac ttg gac acc tgg cat 1026

Arg Phe Gly Gln Gly Ser Ile Ile Gly Val His Leu Asp Thr Trp His

215

220

225

ggg aca ctg act ttt ttc aag aat agg aag tgc ata gga gtg gct gcc 1074

Gly Thr Leu Thr Phe Phe Lys Asn Arg Lys Cys Ile Gly Val Ala Ala

230

235

240

act cgg ctt cag aac aga agg ttc tac ccg atg gtc tgc tgc acc gcc 1122

Thr Arg Leu Gln Asn Arg Arg Phe Tyr Pro Met Val Cys Ser Thr Ala

245

250

255

260

gcc aag agc agc atg aag gtc att cgc tcc tgt gcc agc tcc aca tcc 1170

Ala Lys Ser Ser Met Lys Val Ile Arg Ser Cys Ala Ser Ser Thr Ser

265

270

275

ctg cag tac ctg tgc tgc tac cgc ctg cgc cag ttg cgg cca gac tca 1218

Leu Gln Tyr Leu Cys Cys Tyr Arg Leu Arg Gln Leu Arg Pro Asp Ser

280

285

290

ggg gac acc ctc gag ggc ctg ccc ttg cca ccc ggc ctc aag cag gtg 1266

Gly Asp Thr Leu Glu Gly Leu Pro Leu Pro Pro Gly Leu Lys Gln Val

295

300

305

ctg cat aac aag ctg ggc tgg gtc ctg agc atg aac tgc agc cac tgg 1314

Leu His Asn Lys Leu Gly Trp Val Leu Ser Met Asn Cys Ser His Trp

310

315

320

22/219

aca tcc cct gca ccc cct ccg ggc aca gct gcc cca gcc gct gag aga 1362

Thr Ser Pro Ala Pro Pro Pro Gly Thr Ala Ala Pro Ala Ala Glu Arg

325

330

335

340

gat tcc cgg gag acc agg ccc tgt cag agg aag cgc tgc cga aga agc 1410

Asp Ser Arg Glu Thr Arg Pro Cys Gln Arg Lys Arg Cys Arg Arg Ser

345

350

355

tgacttctcc ccgggaatgc agacaccttt ctttcttgcc cticcagggc agcaggagag 1470

gggagaacgg aggtctaggc ttttccctgt ctccccgagg ccaggacagt cttctctggt 1530

ggccatggag tgtgacagct gtctaccgc ctgtgctggt agggaaacag cactccttcc 1590

tgtttgtcct ttgagttgcc atgtatcctg ggagctgcag ccaggcgctt ggacctagat 1650

tccaagcctg ggaggctggc tgacgaagtg gactgcattc atatcccagg gaagagatgg 1710

gctgtcccga cccacaggtc tgtgggggtt tctgacttg cattgcatgt tgtcagcgcc 1770

tgctcctgtc acagagatgt cagtgggtgc cctgggaagg gattctgtct cgtccccata 1830

ggttctatca ttaaaagcgt cctcacaat gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1879

<210> 6

<211> 356

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

23/219

<400> 6

Met Ala Arg Arg Ala Arg Ser Ser Arg Ala Trp His Phe Val Leu Ser

1 5 10 15

Ala Ala Arg Arg Asp Thr Asp Ala Arg Ala Val Ala Leu Ala Gly Asn

20 25 30

Ser Asn Trp Gly Tyr Asp Ser Asp Gly Gln His Ser Asp Ser Asp Ser

35 40 45

Asp Pro Glu Tyr Ser Ser Leu Pro Pro Ser Ile Pro Ser Ala Val Pro

50 55 60

Val Thr Gly Glu Ser Phe Cys Asp Cys Glu Gly Gln Asn Glu Ala Thr

65 70 75 80

Phe Cys Asn Ser Leu His Thr Ala His Arg Gly Lys Asp Cys Arg Cys

85 90 95

Gly Glu Glu Asp Glu Asp Phe Asp Trp Val Trp Asp Asp Leu Asn Lys

100 105 110

Ser Ser Ala Thr Leu Leu Ser Cys Asp Asn Arg Lys Val Ser Phe His

115 120 125

Met Glu Tyr Ser Cys Gly Thr Ala Ala Ile Arg Gly Thr Lys Glu Leu

130 135 140

Gly Asp Gly Gln His Phe Trp Glu Ile Lys Met Thr Ser Pro Val Tyr

145 150 155 160

24/219

Gly Thr Asp Met Met Val Gly Ile Gly Thr Ser Asp Val Asp Leu Asp

165

170

175

Lys Tyr His His Thr Phe Cys Ser Leu Leu Gly Arg Asp Glu Asp Ser

180

185

190

Trp Gly Leu Ser Tyr Thr Gly Leu Leu His His Lys Gly Asp Lys Thr

195

200

205

Ser Phe Ser Ser Arg Phe Gly Gln Gly Ser Ile Ile Gly Val His Leu

210

215

220

Asp Thr Trp His Gly Thr Leu Thr Phe Phe Lys Asn Arg Lys Cys Ile

225

230

235

240

Gly Val Ala Ala Thr Arg Leu Gln Asn Arg Arg Phe Tyr Pro Met Val

245

250

255

Cys Ser Thr Ala Ala Lys Ser Ser Met Lys Val Ile Arg Ser Cys Ala

260

265

270

Ser Ser Thr Ser Leu Gln Tyr Leu Cys Cys Tyr Arg Leu Arg Gln Leu

275

280

285

Arg Pro Asp Ser Gly Asp Thr Leu Glu Gly Leu Pro Leu Pro Pro Gly

290

295

300

Leu Lys Gln Val Leu His Asn Lys Leu Gly Trp Val Leu Ser Met Asn

305

310

315

320

Cys Ser His Trp Thr Ser Pro Ala Pro Pro Pro Gly Thr Ala Ala Pro

25/219

	325		330		335										
Ala	Ala	Glu	Arg	Asp	Ser	Arg	Glu	Thr	Arg	Pro	Cys	Gln	Arg	Lys	Arg
	340						345						350		

Cys Arg Arg Ser
355

<210> 7

<211> 1055

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> CDS

<222> (102).. (551)

<400> 7

ctcaaaccct gccctccctg agggtagaag tggagctcgg gggttttagca gccggaaccc 60

ctcctctgtc acggagaaga gatggagcag ttcggctgag g atg gag tta gtt gct 116

Met Glu Leu Val Ala

1

5

cca gag gag aca ggg aag gta cct ccc atc gac tct cgc ccc aac tcc 164

Pro Glu Glu Thr Gly Lys Val Pro Pro Ile Asp Ser Arg Pro Asn Ser

10

15

20

cca gcc ctc tac ttc gat gcc agc ctg gtt cac aag tct cca gac cca 212

Pro Ala Leu Tyr Phe Asp Ala Ser Leu Val His Lys Ser Pro Asp Pro

26/219

25	30	35	
ttc gga gct gca gca gcc cag agc ctc agc ctg gct cgg tcc atg ttg			260
Phe Gly Ala Ala Ala Ala Gln Ser Leu Ser Leu Ala Arg Ser Met Leu			
40	45	50	
gcc atc agc ggt cac ctg gac agt gat gac gac agt ggt tcc gga agc			308
Ala Ile Ser Gly His Leu Asp Ser Asp Asp Asp Ser Gly Ser Gly Ser			
55	60	65	
ctg gtt ggc att gac aac aag att gaa caa gcc atg gac ttg gtg aag			356
Leu Val Gly Ile Asp Asn Lys Ile Glu Gln Ala Met Asp Leu Val Lys			
70	75	80	85
tcc cac ctc atg ttt gcc gtg cga gag gag gtg gag gtg ctg aag gag			404
Ser His Leu Met Phe Ala Val Arg Glu Glu Val Glu Val Leu Lys Glu			
90	95	100	
cag atc cgg gac ctg gca gag cgg aat gct gca ctg gag cag gaa aat			452
Gln Ile Arg Asp Leu Ala Glu Arg Asn Ala Ala Leu Glu Gln Glu Asn			
105	110	115	
gga ttg ctg cgt gcc ctg gcc agc ccg gag cag ctg gcc cag ctg cca			500
Gly Leu Leu Arg Ala Leu Ala Ser Pro Glu Gln Leu Ala Gln Leu Pro			
120	125	130	
tcc tcg ggg ctc cca agg ctc ggg ccc tct gca ccc aat ggg cct tcc			548
Ser Ser Gly Leu Pro Arg Leu Gly Pro Ser Ala Pro Asn Gly Pro Ser			
135	140	145	
atc tgagccttct ttccttcaca atgtgccittt gggggctgcc actggccgcc			601

27/219

Ile

150150

gggccttggtg ccagcagcct gccccctctt cctatgtagc tttaatgccc acgcccgacc 661

ccaatgcccga gggaatgggag ttgaggctaa atatiggect gtcccttccc acctgggtctc 721

cccagaagcc tcaggccttg ccggaagaga aagaaccag gaggggatgt ttatctgaag 781

ccctcatcc atgaaagaac ccagccccac ctcttccct gggtattagt gtcttgggga 841

gccccacagc agcagatggc tcagaaagat ttggagggtc cctggcaggc cccctcacca 901

tcccaccttg ttctcttcaa gggccccctc tctctgccc agggaggggg tatggacagt 961

atcttcaact tcttggaattc aggttggtat taaaataata attataatia aaaaaaatct 1021

gaagaaactt gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 1055

<210> 8

<211> 150

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 8

Met Glu Leu Val Ala Pro Glu Glu Thr Gly Lys Val Pro Pro Ile Asp

1

5

10

15

Ser Arg Pro Asn Ser Pro Ala Leu Tyr Phe Asp Ala Ser Leu Val His

20

25

30

28/219

Lys Ser Pro Asp Pro Phe Gly Ala Ala Ala Ala Gln Ser Leu Ser Leu

35

40

45

Ala Arg Ser Met Leu Ala Ile Ser Gly His Leu Asp Ser Asp Asp Asp

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Ser Leu Val Gly Ile Asp Asn Lys Ile Glu Gln Ala

65

70

75

80

Met Asp Leu Val Lys Ser His Leu Met Phe Ala Val Arg Glu Glu Val

85

90

95

Glu Val Leu Lys Glu Gln Ile Arg Asp Leu Ala Glu Arg Asn Ala Ala

100

105

110

Leu Glu Gln Glu Asn Gly Leu Leu Arg Ala Leu Ala Ser Pro Glu Gln

115

120

125

Leu Ala Gln Leu Pro Ser Ser Gly Leu Pro Arg Leu Gly Pro Ser Ala

130

135

140

Pro Asn Gly Pro Ser Ile

145

150

<210> 9

<211> 878

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

29/219

<221> CDS

<222> (54).. (596)

<400> 9

ggcacgagca gagagattgt cccaacagag aggcaattct attccctacc aac atg 56

Met

1

aag ctg ttg ctg ctg ctg ctg tgt ctg ggc ctg aca ctg gtc tgt ggc 104

Lys Leu Leu Leu Leu Leu Leu Cys Leu Gly Leu Thr Leu Val Cys Gly

5

10

15

cat gca gaa gaa gct agt tcc aca aga ggg aac ctc gat gtg gct aag 152

His Ala Glu Glu Ala Ser Ser Thr Arg Gly Asn Leu Asp Val Ala Lys

20

25

30

ctc aat ggg gat tgg ttt tct att gtc gtg gcc tct aac aaa aga gaa 200

Leu Asn Gly Asp Trp Phe Ser Ile Val Val Ala Ser Asn Lys Arg Glu

35

40

45

aag ata gaa gag aat ggc agc atg aga gtt ttt atg cag cac atc gat 248

Lys Ile Glu Glu Asn Gly Ser Met Arg Val Phe Met Gln His Ile Asp

50

55

60

65

gtc ttg gag aat tcc tta ggc ttc aag ttc cgt att aag gaa aat gga 296

Val Leu Glu Asn Ser Leu Gly Phe Lys Phe Arg Ile Lys Glu Asn Gly

70

75

80

gag tgc agg gaa cta tat ttg gtt gcc tac aaa acg cca gag gat ggc 344

Glu Cys Arg Glu Leu Tyr Leu Val Ala Tyr Lys Thr Pro Glu Asp Gly

85

90

95

30/219

gaa tat ttt gtt gag tat gac gga ggg aat aca ttt act ata ctt aag 392
 Glu Tyr Phe Val Glu Tyr Asp Gly Gly Asn Thr Phe Thr Ile Leu Lys

100

105

110

aca gac tat gac aga tat gtc atg ttt cat ctc att aat ttc aag aac 440
 Thr Asp Tyr Asp Arg Tyr Val Met Phe His Leu Ile Asn Phe Lys Asn

115

120

125

ggg gaa acc ttc cag ctg atg gtg ctc tac ggc aga aca aag gat ctg 488
 Gly Glu Thr Phe Gln Leu Met Val Leu Tyr Gly Arg Thr Lys Asp Leu

130

135

140

145

agt tca gac atc aag gaa aag ttt gca aaa cta tgt gag gcg cat gga 536
 Ser Ser Asp Ile Lys Glu Lys Phe Ala Lys Leu Cys Glu Ala His Gly

150

155

160

atc act agg gac aat atc att gat cta acc aag act gat cgc tgt ctc 584
 Ile Thr Arg Asp Asn Ile Ile Asp Leu Thr Lys Thr Asp Arg Cys Leu

165

170

175

cag gcc cga gga tgaagaaagg cctgagcctc cagtgtgag tggagacttc 636
 Gln Ala Arg Gly

180

tcaccaggac tctagcatca ccatttcctg iccatggagc atcctgagac aaattctgcg 696

atctgatttc catcctctgt cacagaaaag igcaatcctg gtctctccag catcttccct 756

aggttaccca ggacaacaca tcgagaatia aaagctttct taaatttctc ttggccccac 816

31/219

ccatgatcat tccgcacaaa tatcttgctc ttgcagtcca ataaatgatt acccttgac 876

tt

878

<210> 10

<211> 181

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 10

Met Lys Leu Leu Leu Leu Leu Cys Leu Gly Leu Thr Leu Val Cys
1 5 10 15

Gly His Ala Glu Glu Ala Ser Ser Thr Arg Gly Asn Leu Asp Val Ala
20 25 30

Lys Leu Asn Gly Asp Trp Phe Ser Ile Val Val Ala Ser Asn Lys Arg
35 40 45

Glu Lys Ile Glu Glu Asn Gly Ser Met Arg Val Phe Met Gln His Ile
50 55 60

Asp Val Leu Glu Asn Ser Leu Gly Phe Lys Phe Arg Ile Lys Glu Asn
65 70 75 80

Gly Glu Cys Arg Glu Leu Tyr Leu Val Ala Tyr Lys Thr Pro Glu Asp
85 90 95

Gly Glu Tyr Phe Val Glu Tyr Asp Gly Gly Asn Thr Phe Thr Ile Leu
100 105 110

32/219

Lys Thr Asp Tyr Asp Arg Tyr Val Met Phe His Leu Ile Asn Phe Lys
 115 120 125

Asn Gly Glu Thr Phe Gln Leu Met Val Leu Tyr Gly Arg Thr Lys Asp
 130 135 140

Leu Ser Ser Asp Ile Lys Glu Lys Phe Ala Lys Leu Cys Glu Ala His
 145 150 155 160

Gly Ile Thr Arg Asp Asn Ile Ile Asp Leu Thr Lys Thr Asp Arg Cys
 165 170 175

Leu Gln Ala Arg Gly
 180

<210> 11

<211> 1124

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (23).. (868)

<400> 11

gccgctgccca ccgcaccccg cc atg gag cgg ccg tcg ctg cgc gcc ctg ctc 52

Met Glu Arg Pro Ser Leu Arg Ala Leu Leu

1

5

10

33/219

ctc ggc gcc gct ggg ctg ctg ctc ctg ctc ctg ccc ctc tcc tct tcc 100
 Leu Gly Ala Ala Gly Leu Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Ser Ser Ser

15

20

25

tcc tct tcg gac acc tgc ggc ccc tgc gag ccg gcc tcc tgc ccg ccc 148
 Ser Ser Ser Asp Thr Cys Gly Pro Cys Glu Pro Ala Ser Cys Pro Pro

30

35

40

ctg ccc ccg ctg ggc tgc ctg ctg ggc gag acc cgc gac gcg tgc ggc 196
 Leu Pro Pro Leu Gly Cys Leu Leu Gly Glu Thr Arg Asp Ala Cys Gly

45

50

55

tgc tgc cct atg tgc gcc cgc ggc gag ggc gag ccg tgc ggg ggt ggc 244
 Cys Cys Pro Met Cys Ala Arg Gly Glu Gly Glu Pro Cys Gly Gly Gly

60

65

70

ggc gcc ggc agg ggg tac tgc gcg ccg ggc atg gag tgc gtg aag agc 292
 Gly Ala Gly Arg Gly Tyr Cys Ala Pro Gly Met Glu Cys Val Lys Ser

75

80

85

90

cgc aag agg cgg aag ggt aaa gcc ggg gca gca gcc ggc ggt ccg ggt 340
 Arg Lys Arg Arg Lys Gly Lys Ala Gly Ala Ala Ala Gly Gly Pro Gly

95

100

105

gta agc ggc gig tgc gtg tgc aag agc cgc tac ccg gtg tgc ggc agc 388
 Val Ser Gly Val Cys Val Cys Lys Ser Arg Tyr Pro Val Cys Gly Ser

110

115

120

gac ggc acc acc tac ccg agc ggc tgc cag ctg cgc gcc gcc agc cag 436
 Asp Gly Thr Thr Tyr Pro Ser Gly Cys Gln Leu Arg Ala Ala Ser Gln

125

130

135

34/219

agg gcc gag agc cgc ggg gag aag gcc atc acc cag gtc agc aag ggc 484
 Arg Ala Glu Ser Arg Gly Glu Lys Ala Ile Thr Gln Val Ser Lys Gly
 140 145 150

acc tgc gag caa ggt cct tcc ata gig acg ccc ccc aag gac atc tgg 532
 Thr Cys Glu Gln Gly Pro Ser Ile Val Thr Pro Pro Lys Asp Ile Trp
 155 160 165 170

aat gtc act ggt gcc cag gtg tac ttg agc tgt gag gtc atc gga atc 580
 Asn Val Thr Gly Ala Gln Val Tyr Leu Ser Cys Glu Val Ile Gly Ile
 175 180 185

ccg aca cct gtc ctc atc tgg aac aag gta aaa agg ggt cac tat gga 628
 Pro Thr Pro Val Leu Ile Trp Asn Lys Val Lys Arg Gly His Tyr Gly
 190 195 200

gtt caa agg aca gaa ctc ctg cct ggt gac cgg gac aac ctg gcc att 676
 Val Gln Arg Thr Glu Leu Leu Pro Gly Asp Arg Asp Asn Leu Ala Ile
 205 210 215

cag acc cgg ggt ggc cca gaa aag cat gaa gta act ggc tgg gtg ctg 724
 Gln Thr Arg Gly Gly Pro Glu Lys His Glu Val Thr Gly Trp Val Leu
 220 225 230

gta tct cct cta agt aag gaa gat gct gga gaa tat gag tgc cat gca 772
 Val Ser Pro Leu Ser Lys Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Glu Cys His Ala
 235 240 245 250

tcc aat tcc caa gga cag gct tca gca tca gca aaa att aca gtg gtt 820
 Ser Asn Ser Gln Gly Gln Ala Ser Ala Ser Ala Lys Ile Thr Val Val

35/219

255	260	265	
gat gcc tta cat gaa ata cca gtg aaa aaa ggt gaa ggt gcc gag cta 868			
Asp Ala Leu His Glu Ile Pro Val Lys Lys Gly Glu Gly Ala Glu Leu			
270	275	280	
taaacctcca gaataattatt agtctgcatg gttaaaagta gtcattggata actacattac 928			
ctgttcttgc ctaataagtt tctitttaatc caatccacta acacttttagt tatattcact 988			
ggtttttacac agagaaatac aaaataaaga tcacacatca agactatcta caaaaattta 1048			
ttatatatatt acagaagaaa agcatgcata tcattaaaca aataaaatac tttttatcac 1108			
aaaaaaaaa aaaaaa			1124

<210> 12

<211> 282

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met	Glu	Arg	Pro	Ser	Leu	Arg	Ala	Leu	Leu	Leu	Gly	Ala	Ala	Gly	Leu	
1				5					10					15		
Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Ser Ser Ser Ser Ser Ser Asp Thr Cys																
				20					25					30		
Gly Pro Cys Glu Pro Ala Ser Cys Pro Pro Leu Pro Pro Leu Gly Cys																
				35					40					45		

36/219

Leu Leu Gly Glu Thr Arg Asp Ala Cys Gly Cys Cys Pro Met Cys Ala
50 55 60

Arg Gly Glu Gly Glu Pro Cys Gly Gly Gly Gly Ala Gly Arg Gly Tyr
65 70 75 80

Cys Ala Pro Gly Met Glu Cys Val Lys Ser Arg Lys Arg Arg Lys Gly
85 90 95

Lys Ala Gly Ala Ala Ala Gly Gly Pro Gly Val Ser Gly Val Cys Val
100 105 110

Cys Lys Ser Arg Tyr Pro Val Cys Gly Ser Asp Gly Thr Thr Tyr Pro
115 120 125

Ser Gly Cys Gln Leu Arg Ala Ala Ser Gln Arg Ala Glu Ser Arg Gly
130 135 140

Glu Lys Ala Ile Thr Gln Val Ser Lys Gly Thr Cys Glu Gln Gly Pro
145 150 155 160

Ser Ile Val Thr Pro Pro Lys Asp Ile Trp Asn Val Thr Gly Ala Gln
165 170 175

Val Tyr Leu Ser Cys Glu Val Ile Gly Ile Pro Thr Pro Val Leu Ile
180 185 190

Trp Asn Lys Val Lys Arg Gly His Tyr Gly Val Gln Arg Thr Glu Leu
195 200 205

37/219

Leu Pro Gly Asp Arg Asp Asn Leu Ala Ile Gln Thr Arg Gly Gly Pro
 210 215 220

Glu Lys His Glu Val Thr Gly Trp Val Leu Val Ser Pro Leu Ser Lys
 225 230 235 240

Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Glu Cys His Ala Ser Asn Ser Gln Gly Gln
 245 250 255

Ala Ser Ala Ser Ala Lys Ile Thr Val Val Asp Ala Leu His Glu Ile
 260 265 270

Pro Val Lys Lys Gly Glu Gly Ala Glu Leu
 275 280

<210> 13

<211> 1043

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<220>

<221> CDS

<222> (15).. (674)

<400> 13

ggccggccgg cacg atg ttg ggc gcg agc cgc ggg tta gcg ggt ctg acg 50
 Met Leu Gly Ala Ser Arg Gly Leu Ala Gly Leu Thr
 1 5 10

ctg ctg ggg ctg ctg ctg gcg ctc tcg gtg cgg agc ggt ggc gcg tcg 98

38/219

Leu Leu Gly Leu Leu Leu Ala Leu Ser Val Arg Ser Gly Gly Ala Ser

15

20

25

aag gcc agc gcc ggg cta gtg acc tgc ggg tca gtg ctg aag cta ctc 146

Lys Ala Ser Ala Gly Leu Val Thr Cys Gly Ser Val Leu Lys Leu Leu

30

35

40

aac acc cac cac aga gtg cgg ctg cac tca cat gac atc aaa tac gga 194

Asn Thr His His Arg Val Arg Leu His Ser His Asp Ile Lys Tyr Gly

45

50

55

60

tcc ggc agc ggc caa cag tgc gta acc ggc gtg gag gcg tcc gac gat 242

Ser Gly Ser Gly Gln Gln Ser Val Thr Gly Val Glu Ala Ser Asp Asp

65

70

75

gcc aat agt tac tgg cga att cgc ggc ggc tcc gag ggt ggg tgc ccg 290

Ala Asn Ser Tyr Trp Arg Ile Arg Gly Gly Ser Glu Gly Gly Cys Pro

80

85

90

cgc ggg ctc cca gtg cgc tgt ggg cag gca gtg cgg ctc acg cac gtg 338

Arg Gly Leu Pro Val Arg Cys Gly Gln Ala Val Arg Leu Thr His Val

95

100

105

ctc acc ggc aag aac ctg cac acg cac cac ttc ccg tca ccg cta tcc 386

Leu Thr Gly Lys Asn Leu His Thr His His Phe Pro Ser Pro Leu Ser

110

115

120

aac aac cag gag gtg agt gct ttt ggg gaa gac ggt gag ggt gat gac 434

Asn Asn Gln Glu Val Ser Ala Phe Gly Glu Asp Gly Glu Gly Asp Asp

125

130

135

140

39/219

ctg gac ctg tgg aca gta cga tgt tct ggg caa cac tgg gag cga gag 482
 Leu Asp Leu Trp Thr Val Arg Cys Ser Gly Gln His Trp Glu Arg Glu

145

150

155

gcc agt gtc cgt ttc cag cat gtt ggc acc tct gtg ttc ctg tca gtt 530
 Ala Ser Val Arg Phe Gln His Val Gly Thr Ser Val Phe Leu Ser Val

160

165

170

act ggt gaa cag tat ggt aac cca atc cgt ggg cag cat gag gtg cat 578
 Thr Gly Glu Gln Tyr Gly Asn Pro Ile Arg Gly Gln His Glu Val His

175

180

185

ggc atg cct agt gcc aat gca cac aac acg tgg aag gcc atg gaa gga 626
 Gly Met Pro Ser Ala Asn Ala His Asn Thr Trp Lys Ala Met Glu Gly

190

195

200

atc ttc atc aag ccc gga gca gat ccc tcc aca ggt cac gat gaa ctc 674
 Ile Phe Ile Lys Pro Gly Ala Asp Pro Ser Thr Gly His Asp Glu Leu

205

210

215

220

tgagccggat gggaaggag ggtggctgag tgggaatccg cagggctgct cttgtgtaag 734

actctgtagg ggccctcaag tgcctttctg attaaagaat gtiggtttgt gattatitit 794

gcgtgaccct ggggaggacc tgagggtgct agtcataict giccacatca icatctcaca 854

tgctcaagt acctgttcaa ataatttttg agaccgtccc actatgtatc ccigggctggc 914

ctggaactcc cagagatcca ctigcctctg cctcctgagc gctgggtatta aaggtgtata 974

cgaccacagc tggccccaac ctgttcaata aactaatttt tattacagtg tgaaaaaaaa 1034

40/219

aaaaaaaaa

1043

<210> 14

<211> 220

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 14

Met Leu Gly Ala Ser Arg Gly Leu Ala Gly Leu Thr Leu Leu Gly Leu

1

5

10

15

Leu Leu Ala Leu Ser Val Arg Ser Gly Gly Ala Ser Lys Ala Ser Ala

20

25

30

Gly Leu Val Thr Cys Gly Ser Val Leu Lys Leu Leu Asn Thr His His

35

40

45

Arg Val Arg Leu His Ser His Asp Ile Lys Tyr Gly Ser Gly Ser Gly

50

55

60

Gln Gln Ser Val Thr Gly Val Glu Ala Ser Asp Asp Ala Asn Ser Tyr

65

70

75

80

Trp Arg Ile Arg Gly Gly Ser Glu Gly Gly Cys Pro Arg Gly Leu Pro

85

90

95

Val Arg Cys Gly Gln Ala Val Arg Leu Thr His Val Leu Thr Gly Lys

100

105

110

41/219

Asn Leu His Thr His His Phe Pro Ser Pro Leu Ser Asn Asn Gln Glu
115 120 125

Val Ser Ala Phe Gly Glu Asp Gly Glu Gly Asp Asp Leu Asp Leu Trp
130 135 140

Thr Val Arg Cys Ser Gly Gln His Trp Glu Arg Glu Ala Ser Val Arg
145 150 155 160

Phe Gln His Val Gly Thr Ser Val Phe Leu Ser Val Thr Gly Glu Gln
165 170 175

Tyr Gly Asn Pro Ile Arg Gly Gln His Glu Val His Gly Met Pro Ser
180 185 190

Ala Asn Ala His Asn Thr Trp Lys Ala Met Glu Gly Ile Phe Ile Lys
195 200 205

Pro Gly Ala Asp Pro Ser Thr Gly His Asp Glu Leu
210 215

<210> 15

<211> 844

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (39).. (701)

42/219

<400> 15

ggcccctggg cccgaggggc tggagccggg ccggggcg atg tgg agc gcg ggc cgc 56

Met Trp Ser Ala Gly Arg

1

5

ggc ggg gct gcc tgg ccg gtg ctg ttg ggg ctg ctg ctg gcg ctg tta 104

Gly Gly Ala Ala Trp Pro Val Leu Leu Gly Leu Leu Leu Ala Leu Leu

10

15

20

gtg ccg ggc ggt ggt gcc gcc aag acc ggt gcg gag ctc gtg acc tgc 152

Val Pro Gly Gly Gly Ala Ala Lys Thr Gly Ala Glu Leu Val Thr Cys

25

30

35

ggg tcg gtg ctg aag ctg ctc aat acg cac cac cgc gtg cgg ctg cac 200

Gly Ser Val Leu Lys Leu Leu Asn Thr His His Arg Val Arg Leu His

40

45

50

tcg cac gac atc aaa tac gga tcc ggc agc ggc cag caa tcg gtg acc 248

Ser His Asp Ile Lys Tyr Gly Ser Gly Ser Gly Gln Gln Ser Val Thr

55

60

65

70

ggc gta gag gcg tcg gac gac gcc aat agc tac tgg cgg atc cgc ggc 296

Gly Val Glu Ala Ser Asp Asp Ala Asn Ser Tyr Trp Arg Ile Arg Gly

75

80

85

ggc tcg gag ggc ggg tgc cgc cgc ggg tcc ccg gtg cgc tgc ggg cag 344

Gly Ser Glu Gly Gly Cys Arg Arg Gly Ser Pro Val Arg Cys Gly Gln

90

95

100

gcg gtg agg ctc acg cat gtg ctt acg ggc aag aac ctg cac acg cac 392

Ala Val Arg Leu Thr His Val Leu Thr Gly Lys Asn Leu His Thr His

43/219

105	110	115	
cac ttc ccg tcg ccg cig tcc aac aac cag gag gtg agt gcc ttt ggg			440
His Phe Pro Ser Pro Leu Ser Asn Asn Gln Glu Val Ser Ala Phe Gly			
120	125	130	
gaa gac ggc gag ggc gac gac ctg gac cta tgg aca gtg cgc tgc tct			488
Glu Asp Gly Glu Gly Asp Asp Leu Asp Leu Trp Thr Val Arg Cys Ser			
135	140	145	150
gga cag cac tgg gag cgt gag gct gct gtg cgc ttc cag cat gtg ggc			536
Gly Gln His Trp Glu Arg Glu Ala Ala Val Arg Phe Gln His Val Gly			
155	160	165	
acc tct gtg ttc ctg tca gtc acg ggt gag cag tat gga agc ccc atc			584
Thr Ser Val Phe Leu Ser Val Thr Gly Glu Gln Tyr Gly Ser Pro Ile			
170	175	180	
cgt ggg cag cat gag gtc cac ggc atg ccc agt gcc aac acg cac aat			632
Arg Gly Gln His Glu Val His Gly Met Pro Ser Ala Asn Thr His Asn			
185	190	195	
acg tgg aag gcc atg gaa ggc atc ttc atc aag cct agt gtg gag ccc			680
Thr Trp Lys Ala Met Glu Gly Ile Phe Ile Lys Pro Ser Val Glu Pro			
200	205	210	
tct gca ggt cac gat gaa ctc tgagtgtgtg gatggatggg tggatggagg			731
Ser Ala Gly His Asp Glu Leu			
215	220		
gtggcaggtg gggcgtctgc agggccactc ttggcagaga ctttgggttt gtaggggtcc			791

44/219

tcaagtgcct ttgtgattaa agaagtgttg tctatgaaaa aaaaaaaaaa aaa 844

<210> 16

<211> 221

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Met Trp Ser Ala Gly Arg Gly Gly Ala Ala Trp Pro Val Leu Leu Gly

1 5 10 15

Leu Leu Leu Ala Leu Leu Val Pro Gly Gly Gly Ala Ala Lys Thr Gly

20 25 30

Ala Glu Leu Val Thr Cys Gly Ser Val Leu Lys Leu Leu Asn Thr His

35 40 45

His Arg Val Arg Leu His Ser His Asp Ile Lys Tyr Gly Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Gln Gln Ser Val Thr Gly Val Glu Ala Ser Asp Asp Ala Asn Ser

65 70 75 80

Tyr Trp Arg Ile Arg Gly Gly Ser Glu Gly Gly Cys Arg Arg Gly Ser

85 90 95

Pro Val Arg Cys Gly Gln Ala Val Arg Leu Thr His Val Leu Thr Gly

100 105 110

45/219

Lys Asn Leu His Thr His His Phe Pro Ser Pro Leu Ser Asn Asn Gln
115 120 125

Glu Val Ser Ala Phe Gly Glu Asp Gly Glu Gly Asp Asp Leu Asp Leu
130 135 140

Trp Thr Val Arg Cys Ser Gly Gln His Trp Glu Arg Glu Ala Ala Val
145 150 155 160

Arg Phe Gln His Val Gly Thr Ser Val Phe Leu Ser Val Thr Gly Glu
165 170 175

Gln Tyr Gly Ser Pro Ile Arg Gly Gln His Glu Val His Gly Met Pro
180 185 190

Ser Ala Asn Thr His Asn Thr Trp Lys Ala Met Glu Gly Ile Phe Ile
195 200 205

Lys Pro Ser Val Glu Pro Ser Ala Gly His Asp Glu Leu
210 215 220

<210> 17

<211> 927

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 17

angctcgaaa ttaaccctca cttaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtaggcggc 60

cgctctagaa ctatgggac ccccgggctg caggaattcg gcacgaggga cagagagcgc 120

46/219

atggagatgg gaagactgic gccacccaga cagccacgca agtgccttta actttgagaa 180
ggccttttct ccttttctga tttgggtgcta cggactcacg acagaactca gacaccagca 240
gacaagagtc tggccttagg tggcggtagc cactctggcc agacgaaagc cagtttgttt 300
ctgatttttg ctttctttac aactaagcag ttttgttag cagggcaggc ctgttccggc 360
cagctttctt ttaagatccg ggtaaatitt ctttccagc agccttctct ctggagtggc 420
ctctaccaca ctaacaggag gtgtcttcag agtatggaca gctagccacg aggccctcc 480
gtccttgga gggctactcc gttccttaga caccagaggc cacaaactag ggttgggcca 540
caagcacaca atgctttctt ccacggcagg aattcatacc aaaaccacaa gcaaaaaaca 600
aaacaaaaaa aaaaaaaaaa aactcgaggg ggggcccggt acccaattcg ccctatagtg 660
gagtcgtatt acaattcant gggccgtcgt ttacaacgt cgtgactggg aaaaccctgg 720
ggttaccaa ctttaatcgc ctignagcaa atcccccttt tggccagctg gggtaatagc 780
gaagaaggcc cgnaccgat tggccttcc aaaagtgcg cagcttgaat ggggaatggg 840
aaattgtaag gggtanaaat ttgggtaaaa atcgngtta aaattttggt aaaatcaggc 900
ccantttttt aacccaaaaa gggggggg 927

47/219

<211> 933

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 18

caaggtcgaa attaacccctc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60
ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggttttt tttttttttt ttcacnagct 120
tgaictatct ctccgttcctc catggctctg atgtcaggcc gcagcctgca gtcagtcctg 180
ggaatcacgg tctccatctc ctgtcttacc tcattcaaga ccatggcaaa gcctggtaaaa 240
ttatacatct gagcagagtt gggaggccgc ggggctatcc gccacaggag cgcactgcca 300
ggaataacaa atacgctctc agagtccggc actgggcatt tcgtcagact cctcagatgg 360
cgcttgccctg ttgggctggt ctctctctct tctgtgtttt tcttatcggt ttttttgtaa 420
gcgtcaaaag tggcagggtc tacactgtac aagcactcgg tccacttccc gtagagagca 480
cagagtttct ttttgctttt ancttggatg tagccttcaa ctttgtgtaa ttcccttgcca 540
aaaagaccac atggcttaaa attcaacaca cacttgctcc cagtcctgtg gtttangatt 600
tccacattgc catacigtic gatccagagt ttgccacga tgaigttaatg cacacagcag 660
tggggtttgt ccatgtgtat ggggggggcc cggtacccaa tcgncciana gtgagtcgta 720
atacaattca cngggccggt cggtttacaa agtcgtggaa tgggaaaaac ctgggcggtt 780

48/219

acccaaactt naatgcctt gcagcaaaaa ccccttttcg gcaaannggg ggnaaaaagc 840

gaanaaggcc cggaancgga attggcncct tccccaaaaa gnttgcggac nctngaaaag 900

ggggaaatgg gcaaaatgga aaancggtta aaa 933

<210> 19

<211> 933

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 19

caaggctgaa attaaccttc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60

ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggttttt tttttttttt ttcaenagct 120

tgatctatct ctccgttctc catggctctg atgtcaggcc gcagcctgca gtcagtcttg 180

ggaatcacgg tctccatctc ctgtcttacc tcattcaaga ccatggcaaa gctggtaaaa 240

ttatacatct gagcagagtt gggaggccgc ggggctatcc gccacaggag cgcactgcca 300

ggaataacaa atacgtcttc agagtcgggc actgggcatt tcgtcagact cctcagatgg 360

cgcttgcctg ttggctgtt ctctctctct tctgtgtttt tcttatcggt ttttttgtaa 420

gcgtcaaaag tggcagggtc tacactgtac aagcactcgg tccacttccc gtagagagca 480

cagagtttct ttttgccttt ancttggatg tagccttcaa ctttgtgtaa ttccttgcca 540

49/219

aaaagaccac atggcttaaa attcaacaca cacttgctcc cagtcctgtg gtttangatt 600
tccacattgc catactgttc gatccagagt ttgccacga tgaigttaig cacacagcag 660
tggggtttgt ccatgtgtat ggggggggcc cggtaaccaa tcgncctana gtgagtcgta 720
atacaattca cngggccggt cggtttacia agtcgtggaa tgggaaaaac ctgggcggtt 780
acccaaactt naatgcctt gcagcaaaaa ccccttttcg gcaaannggg ggnaaaaagc 840
gaanaaggcc cggaancgga attggcncct tccccaaaaa gnttgcggac nctngaaaag 900
ggggaaatgg gcaaaatgga aaancggtta aaa 933

<210> 20

<211> 942

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 20

caagngcgaa attaaccctc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60
ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggctgac tttataggaa aactgattat 120
atcaatgtgt atatgtgta tatatacata tattcaatac tgccttctct ttttgtctac 180
agtatcaaaa ttgactgacg gaatcatgaa aagaatgttc cccatcacca tttagagttt 240
tatttttgtt ttctttgttt atcaatgaat ggtgtaagaa tcaagtcctt tgtttttttg 300

50/219

aagaaaaaaa gcaatattcc ttgaagagca aggaggattg aaggattttg tttgagtgag 360
gaacagagtt cataactagt ttgttggata ctigtaaggt tggtaicctt gtgggcctat 420
atactctaaa atgaaccttg gtggcttggt gccattact tgacctatga atctttaagg 480
gcacaatcag ttatctttta catataaaga tcgcttggag tgatggccac cgctcctgcc 540
cgncctccct cctcctcttc ctcccgga aannngcggg ncnnnnnncc ncnnnnnnn 600
ccnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnngcc gngggggggn ccggnnnccn nnnngnccnn 660
nnnggggncg nnnnnnnnnn nnnnnngggn gnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnggggnn 720
ancnggngn nnnnnnnnnn nnnnnnggn nnnnnnnnnn nnnnccnnn nnnnnnnng 780
ggggnnnnnn nnnnnngggn nnnnnnnngn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnn 840
nnnnngggnn nnnnggggnn nnnnnnnnnn gnnnnnnnnn nnnngnnnnn nnnnnngngg 900
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nn 942

<210> 21

<211> 929

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 21

ncaagcgcng aaattaaccc tcactaaagg gaacaaaagc tggagctcca ccgcggtggc 60

51/219

ggcgcgtcta gaactagtgg atcccccggg ctgcagggtt gcgggctttg aaccgcctgg 120
ccgcgcggcc cggggggccag cccccaaccc tgcctcttct gcccgctgcg ggccgcaaga 180
cccgccacga tccgcctgcc aagiccaagg tcgggcgcgt gaaaatgcct cctgcagtgg 240
accctgcgga atgtttcgtg ttgaccgagc gctaccgaca gtaccgggag acggctgcgcg 300
ctctcaggcg agagttcaca ttggaggctc gagggaaatt gcacgaggcc cgagccgggg 360
ttctggctga gcgcaaggcg caagaggcca tcagagagca ccaggagctg atggcctgga 420
accgggagga gaaccggaga ctgcaggaac tacgggatag ctaggttgca gctcgaagca 480
caggcccagg agctgcggca ggctgaggct caggcccaga gggcccagga ggagcaggct 540
tgggtgcaac tgaaagaaca agaagtctc aaactgcagg aggaggccaa aaatttcac 600
actcggggag aacctggagg gcacggatag aagaggcctt ggactctccg aagagttata 660
actggggcgg ttacacaaag aagggcaggt ggttcaggaa ctgagaacag aggctcttca 720
ggcccaaata aggacatgct tgcctaagga tggatatggg ggtagaaatt ggtgcatccc 780
aggagggtng caanancctg ttccagagcn agccccatt tcatttctna gantngcac 840
caaggtatag taccctgttc ttgacaccaa catnccaaac ttcgggacag canttaaaac 900
tcctgggnaa ntctatcaa accagaagg 929

52/219

<210> 22

<211> 925

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 22

ncaagcgncg aaattaaccc tcactaaagg gaacaaaage tggagctcca ccgcggctggc 60

ggccgctcta gaactagctg atccccggg ctgcaggaat tcggcacgag atggcagacg 120

tcctcccagg tatgcagaag acaactictg gctcagttc tctcaacct gtgggtctca 180

gggatggaac tcagtctgct atgattggca gcaagcacct ttacctgctg acccacctca 240

gcactcctga tggagcagat gtagatgaac aatatcatct atgaaacatt ccaaacaaaa 300

ctaacttgaa tccatcaagc ctcccatca aacacgcaat tttttaatt tgttttatta 360

ttttttgatg tctgtgtgtt atgtctgcat gtagtctgt gtgcatgtt tgttcccgtt 420

gccccctgga agtcagaaga aggaatcaga tcccctagaa ctggagtctc agaaagatga 480

gctgcaggct ggggctggga attgaacctg tctcctctgg aagagcagct ggtgctctta 540

acagctgaac acctctccag tgccaaacac accatttata agaaatacaa caggctggaaa 600

taacaaattc tgtggccatt ctggaggata actggtgtat aagcttcaac aatgtatcat 660

cctggaagaa acaatggctg tgtggggaaa aaaaaaatct aaggacatt acagcctgac 720

ccagatcna ttctggaaca gacaagctat aaaacacctt tcagcacaat tggaaggagg 780

53/219

aacgaaagcc atgggaatat ttggataaga tgaagtgtg ttgccatgca agccttggga 840

ggncattaaag gaaacgggca agtccncaaa aagggggngn tgnnccanaa naaccccggg 900

gittaaaaann nnaaaagggg gggggg 925

<210> 23

<211> 1828

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 23

ncaagcgca aattaacnnt cactaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60

gccgtctag aactagtga tccccgggc tgcagggttt tgccgagggg tcttgggctg 120

gggcggacag tgtacgggat ggaggcgact ttggagcagc atttggagga cacaatgaag 180

aatccatcca ttgttggagt cctaigcaca gattcacaag gacttaatct gggctgccgt 240

ggtaccctgt cggatgagca tgcaggagt atatctgttc tcgccagca ggcagctaag 300

ctgacctctg accccaccga catccctgta gtgtgtttag agtcagataa cgggaatggt 360

atgatccaga aacacgatgg catcacagt gctgtgcaca aaatggcctc ttgacatctg 420

atgccagctc tccagtggc tcccaccggg attcagtcac gcctgtctca gttaacttgt 480

aaaactatta aagttccaga aatcgggcca itcacttaat gtccaatgtg gacttcttat 540

54/219

taatatgaca gtcagttacc aagacgtcag ttaggagtgt ggtggccttg tctgggcttt 600
tgtcactctg ctctttggig acagccactg tagtccagga tcataatccct caggcctaga 660
actgtgtagc ccaggctgac ttcaaattta tggcttccct gcttcaaact cctataatcct 720
ggggatttag cattgtcatg ggtctaggtc actttgtata tagaactttg ttgtgggtca 780
ataaaccggg ggggnccggg tacccaattc gncnnaagt ggagtcggaa ttacaaattc 840
cactggccgt ccgtttttac aaaggctgtg actggggaaa aacctgggcg gttancccaa 900
cttnaaacgg cctgncaagc gcgaaattaa cnnctactaa aggaacaaa agctggagct 960
ccaccgcggt ggcggccgct ciagaactag tggatcccc gggctgcagg gttttgccga 1020
ggggtcttgg gctggggcgg acagtgtagc ggatggagge gactttggag cagcatttgg 1080
aggacacaat gaagaatcca tccattgttg gagtccatg cacagattca caaggactta 1140
atctgggctg ccgtgggtacc ctgtcggatg agcatgctgg agtgataatct gttctcgccc 1200
agcaggcagc taagctgacc tctgacccca ccgacatccc tgiagtgtgt ttagagtcag 1260
ataacgggaa tgttatgata cagaaacacg atggcatcac agtggctgtg cacaaaatgg 1320
cctcttgaca tctgatgcca gctctccagt ggtctccac cgggattcag tcatgcctgt 1380
ctcagttaac ttgtaaaact attaaagttc cagaaatcgg gccattcact taatgtccaa 1440

55/219

tgtggacttc ttattaatat gacagtcagt taccaagacg tcagttagga gtgtggtagc 1500
cttgtctggg cttttgtcac tcgtctcttt ggtgacagcc actgtatgcc aggatcatat 1560
ccctcaggcc tagaactgig tagcccaggc tgacttcaaa tttatggctt tcttgcttca 1620
aactcctata tcttggggat ttagcattgt catgggtcta ggtcactttg tatatagaac 1680
tttgttgtag gtcaataaac cgggggggnc cgggtaccca attcgncna aagttgagtc 1740
ggaattacaa attccactgg ccgtccgttt ttacaaaggt cgtgactggg gaaaaacctg 1800
ggcggttanc ccaacttnaa acggcctg 1828

<210> 24

<211> 936

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 24

caagcgcgaa attaaccttc acgtaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggtaggc 60
gccgctctag aactatigga tccccgggc tgcaggtcta cagcgatctc tcgttgatct 120
ccaactgccg cctccattcg ccatggacc caactgctcc tgtgccacag atggatcctg 180
ctcctgcgct ggctcctgca aatgcaaaca atgcaaatgc acctcctgca agaaaagctg 240
ctgttcttgc tgccccgtgg gctgtgcgaa gtgtcccag ggctgcatct gcaaagaggc 300

56/219

ttcggacaag tgcagctgca ggcctgaag tgggggcgtc ctcacaatgg tgtaaataaa 360
acaacgtagg gaacctagcc tttttitgia caacctgac aggtttctcca cacititttc 420
tataaagcat gtaactgnac aataaaataa aaaaacttgg acttggatta aaaaaaaaaa 480
aaaaaaaaac tcgagggggg gcccgggtacc caattcgccc tatagtgagt cgtattacaa 540
ttcactggcc gtcgttttac aacgtcgtga ctgggaaaac cctggcgta cccaacttaa 600
tcggccttgc agcacatccc ccttcggcc agctggcgta aatagcgaag aggcccgcac 660
cggatcgccc ttcccaanag ttgcgcacct ggaatggcga atggcaaatt gtaagcgta 720
atattttgtt aaaattcgcg ttaaattttt gntaaatcag ctcatttttt aaccaatagg 780
gccgaaatcg gggaaaatcc cttaataaat caaaagnata gnccggagat agggttgant 840
ggttgttccc agtttttgaa ccaaggagtc cacnattta aagaaccgtg ggactccaan 900
ggccaaaagg gnggaaaaaa ccggnntaat cagggg 936

<210> 25

<211> 941

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 25

. ncaagcgcgg aaattaaccc gtcacgtaaa gggaacaaaa gctggagctc caccgcggtg 60

57/219

gcggccgctc tagaactagt ggatcccccg ggctgcagga attcggcacg agcttccttg 120
agactactgc gccatgagag cgaagtgggc ggaagaagag aatgcgcagg ctgaagcgca 180
agagaagaaa gatgaggcag aggtccaagt aaaccatctt gtgcaccac gaagccigcg 240
ggagcagaag taagggatgc tgaagcccg aacaagtgtt tggactgtat gctgctgtcg 300
gtaataagtc tcagtagacc cggaatgica cctcgccgag atcagctggg aaaatgacta 360
ccttcctcac aaccaaaaaca gtcccgttg cctctgccc tgggaccttt gggcattctg 420
ggactagtgc tgttctcttg tggccaagt taactcgtgt acaataaacc ctcttgctgt 480
cagctggaag aatcaaaaaa aaaaaaaaaa aactcgaggg ggggcccggt acccaattcg 540
ccctatagtg agtcgtatta caattcactg gccgtcgttt tacaacgtcg tgactgggaa 600
aacctggcg ttacceact taatcgctt gcagcacatc ccccttctgc cagctggggt 660
naatagcgaa gaggcccgca ccgacggcc ctcccaaca gtgcgcacc tggaatggcg 720
aatgggcaaa ttgtaagcgt taataatttg ttaaaattcg cgttaaaatt ttgtttaa 780
cagctcattt ttaaccaat agggcggaaa tcggcaaaaa tnccttataa atcaaaaagg 840
ataggaccgg agataggggn tgaagtgtt ggtncagnt ttingnacaa agagtccccc 900
taattaaaag gaangggggg gcctcccaaa nggtcnaaaan g 941

58/219

<210> 26

<211> 929

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 26

ncaagcgcgg aaattaaccc tcactaaagg gaacaaaagc tggagctcca ccgcggtggc 60

ggccgctcta gaactagtgg atcccccggg ctgcaggctc aggatgagag agcacgtcat 120

gaatgagatt gataacaaca aagaccgatt ggtgactctg gaggaattct tgagagccac 180

agagaagaaa gaattcttgg agcccgatag ctgggagaca ctggaccagc agcagttatt 240

caccgaggaa gagctcaaag agtatgaaag tatcattgct atccaagaga gigaacttaa 300

gaagaaggca gatgaactgc agaagcagaa ggaggagctg cagcgccagc acgaccacct 360

tgagggccca gaagcaggag tatcagcagg gccgttacag cagctgggaa cagaagaaat 420

tccaacaagg gattgctcca tcaggggccg gcaggagagc tgaagtttga gccaaacaca 480

taaaagtcct gatgtctgcc agaacttggg aagaaaaccg ttgactcaac atctgtttca 540

tctttcaaca tcccttcttt tctcttact caataaatac tttaaagca aaaaaaaaaa 600

aaaaaaaaa aactcgaggg gggggccggt acccaattcg ccttatagtg agtcgtattt 660

caattcactg gccgtcgitt tacaacgtcg tgactgggaa aaccttgggg tiaccaact 720

taatcgcttt gnagcacatc cccctttcgc cagctggngt aaatagcgaa gaggcccgca 780

59/219

ccggatnggc ccttcccnaa cagttgngca ccttgaaatg ggcggaatgg gcaaattgia 840
agcgtaaana ttttgtiaaa attcgcgta aatttttngn naaatcaggc ccantttttt 900
aacccaatag ggccgaaatc ggnaaaaatn 929

<210> 27

<211> 921

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 27

ncaagcgcga aattaaccct cactaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggiggcg 60
gccgctctag aactagtgga tccccgggc tgcagggaga actatctcga gttttttttt 120
tttttttttt tttaatittg agactgggtc tctctatgtt gtccaggcta gtcttgaact 180
tctggattca agtcatctac ttgtgtcagc ctcttagctc ctaccaccac acttgacttt 240
gcttgtaact ttgaaaagtc cattcaaat taagctctta agagactgaa tggaaaggca 300
atittgtctg aaggatatit cctatgtaag ggagaatagc atttgcagaa tataattctg 360
gtgctgctag gggaaaaatc agtaggaagt tatagtcccc agttggcttt aaccaactac 420
aaccttctct caatataaag tattcaagaa taaagagtat ggtatctact tatcagaaag 480
gcatgtttcc tatigggcaa agttagtga aaagtgactt tactcatitt gcattttacct 540

60/219

cggctgtata agcatttcct agcgcaggat gcttcttcca gaaatcaaga accaggigaa 600
tacaggacta agacccttct ggatgttctt cccacatcta gtaigtigac cccaacactg 660
aacttgga aatcttaagti gaccctggaa tactcaggct tcccnattt cccttcagct 720
gataacagaa tcntttggaa agctctcagc agatccgnan agttgcttac ccgataataa 780
atgcataatca aagcccttaa aggaaggaat ccnangccaa aggatccanc ccttnggnnt 840
tacnaaaggn tacctagggg ggattaangg aaaaaaggnt tggccccccc aaggctcttc 900
ccagntncng gggaggnaan a 921

<210> 28

<211> 925

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 28

ncaagcgcga aattaacct cactaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggiggcg 60
gccgtcttag aactagtga tccccgggc tgcaggctgg aagatagict taagaataac 120
cttttaatga aggagtggc aaatattica agttgtgcct gctggttcca gggttcttaa 180
cctctctagt taagggtta gctttcttg gacatcaact gtcttatttc tgaaaaagac 240
caaatgtaac tgggtgcacc agcagtgtgg gaatgaccaa gtaigtattt gtccctgiga 300

61/219

ttcaaaagat gtttgtcagg tagagtggg tgaatgcat tattgtgtgc atgggtatgt 360
 atgggtggga tatggcticc tggcagacig gaaataaatc agagcaattt aaaaaaaaaa 420
 aaaaaaaact cgaggggggg cccggiaacc aattcgccct atagtgagtc gtattacaat 480
 tcactggccg tcgttttaca acgtcgtgac tgggaaaacc ctggcgttac ccaacttaat 540
 cgccitgcag cacatcccc tttcgccagc tggcgtaata gcgaagaggc ccgcaccgat 600
 cgcccttccc aanagttagc cacctggaat ggcgaatggc aaattgtaag cgltaaaatt 660
 tgttaaaatc gngttaaatt ttgttaaate agtcatttt taaccaatag gcgaaatcgg 720
 gcaaaatccc ctataaatcc aaagnataga ccngatagg ggtnagtgtt gtccagttt 780
 gggacaagag tccccctatt taaagaaccg tgggctccca aaggctcaaa nggggggaaa 840
 aaccggccta atccangggc gatgggcccc otaacgggn acccatcaac ccnaaanca 900
 aggttttttt gggggcccaa ggigc 925

<210> 29

<211> 918

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 29

ncaagcngn aaattaacce tcactaaagg gaacaaaagc tggagctcca ccgcggtggc 60

62/219

ggccgcicta gaactagtagg atcccccggg ctgcagggtt ctgatggat aagcaaaaca 120
aataaaacat gtttctaaaa gtigtatcct gaaacactgg tgttcaacag ctagcagcia 180
aagtgattca caccatgcat ttttagtgic acagactttg tggttatgic taatagctgt 240
ttctgaagta ttttcgttta tcttttgtct aatttaacce taagtgaatt ctctcccttt 300
tcttgaggac acacttatgc tcaaagtggt gactctgccg tagtggcata aagagagtgt 360
accgtttgac agagatgcaa agttcagcag tggacctaac cagatgtcct gtggctggga 420
tctgtgctag cagtttggag caccagctgt gtgcctgtga actggaatgc cacttgtccc 480
atccatcta cgccttgcag aatcagttcc acttgtaaa ggcaaaggct acttaccacc 540
ttaatgctat tttctgtaaa gaaattaaat tttactttta gccttttgca aacttttttt 600
ttccaagccg gtaatcagcc atccaaaaac aactattctc agatattcat cattagaçaa 660
ctgggagttt ttgcnnggtt ttgtagccta ctaaaactgc ttaggctgtt gaacaticca 720
cattcaaagt ttgttagggt ggtgggataa tgggggaaac ttcaatgnnt aatttaaaaa 780
taaataaaat aagttccctg acttttaaaa aaaaaaaaaa aaaaccccga ggggggggcc 840
nggnacccaa ttcncccaa aaggggggcc ggatnacaaa ttcccnnggc cgccggtttt 900
aaaacggncg ggaccggg 918

63/219

<210> 30

<211> 918

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 30

ncaagntcga aattaacctt cactaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60

gccgctctag aactagtggg tccccgggc tgcaggtcga gttttttttt tttttttttt 120

ttttaaaagg tgagtcgaaga tacacagctt taatacatat tagaaataac caatgigcca 180

ccaatacgat tcccctaaaa cacagcaagt gccagcgctt ggggccacac tcatctgtct 240

ttgtaatcact agacaatcga atgaccaacc atccattttt cccacatcct gccattcatt 300

aaggtatttt cagccagatt ttttagcaat atgctttttt tctttctttc aaatacaaca 360

agccacacag ggagttctac tatggaatgt ccaacaacaa cagggctgta tgggggcca 420

gccttttctg gaaaaacaatg gcggatctct aaaagattct ctgtcttccc tttatggagt 480

cagcagtgtt ccacgttaat taagccactt caatttactg tatcagtttg gatattcggt 540

ttaattgigg gactagacac agaaactcac atttctggcc ttttctcttg catttcicac 600

tatactatgg gttttttttt cccacaccgt aaatacagca tggattgaca ggtagaaact 660

cgtgtcaata gtcgtgtggg tttatgccaa ctcatgtggg tgatactata tattanincc 720

64/219

agnicccctcn caaggcctan antaagatgn ngnaatagtt gcnatggigg gtaaccttcc 780

tggcggttaa gagaagtigac ggcanccign ccttagatca gaaggtaaaa acccccaatt 840

ggccaaggaa aaggccggcc caggngggac cggnccagnt naaaggaaan gccttaanna 900

aatgggaacc cccggngg 918

<210> 31

<211> 925

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 31

gcaagcgtcg aaattaaccc tcactaaagg gaacaaaagc tggagctcca ccgcggtggc 60

ggccgctcta gaactagtagg atccccggg ctgcaggctt ccctgacca cagttggacc 120

gggcattigia gccagggtcc gtcgcacitt tcggtggctc gcacggactg agccaactcg 180

gigtggacga tctccctggc tgggcttgtt ggctagtcca cctttgcagt tccagtagtc 240

agactggagt ctctttggaa gcagctctaa ggaatacacc aggatctcag ggittatctg 300

tgtagccctg gctatccctg agctgtctct gtagaccagg ctgggctgag actgaggccc 360

agttgccctc gccctctgag tgctgggatt aaagagtctc aatgtcttcg ctgacgctcc 420

tttggatgia cccccaaatc tctggaccac atcacctgg gacccccgat gcggctgcct 480

65/219

gagcaacctg ggagatggaa agcctgagaa tgagacaaag ggggaccaag aaacccccga 540
aaggggagag gagccacgga gaagcccagc cccigacttc cccacctggg aaaagatgcc 600
gttccacat gtaactgctg ggcttgttgt acaagggaat tacctcaacc gnicttctgt 660
ctgcaggcag cgacagttag cagttgggct aatatctctg tggaagaatc gatgataaga 720
gtcaaaatcg ttcaaaggaa agctgggctt ggtggctgtc cactggaanc ccagtatcca 780
ggggactaaa gaccaggagc tgatgccggn ttccantacc cagggggnaa ttgtcctttg 840
gaaaaccaac ggggtgaanaa tgtaagcccc gtggnaaaaa ntgcnggggc ctgtgtgtgc 900
aaaaaagcnn gttaaataa anncc 925

<210> 32

<211> 921

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 32

tntgcaagcg cgaaattaaa cctcactaaa gggaacaaaa gctggagctc caccgcggtg 60
gcggccgctc tagaactagt ggatcccccg ggctgcaggt gggcctcgtg cgtttgggtg 120
tgtggtataa ctccttccgg gcctggaagg gaggccttc tggaaacttt gaaggcgaag 180
gcttcacct cggaggggtt ttgtgatag gatctgaaa gcagggcggtt ctctttgagc 240

66/219

accgagaaaa agagtittgga gacagagtga acctgctctc tgttcttgga gccgtaaaga 300
agatcaagcc acagacccca gccctccaggc aaagctgac acctgctggc tggggggggg 360
ggaacggggg cctgtgcagt gticaccaga tgagctgtgc tticactgtg accccaagag 420
ctaggaggcc attgcacat atttactggg aattggtgat gtattttaaa attgtctgtt 480
taggtcccag aatgtttaac attccgttta gacccaatag ggcaaatagg tcccagacag 540
aacagagtaa aatctaaca atcagtgaga gttatttgag gaaagatcta gaaaatttaa 600
ggcctaaagt tgactgttaa gccctccgtt cacaggaata tgtcctaagt gccagggatg 660
tgaagtagag gaagnttica tgcctaatta aaaagaaaac atctgaaatc tgagaaaagt 720
ggggactaag aaacaactac aactccagt gtagagcatt tacctaacgt gcacatggnc 780
ctgggttaga taccacagac cagaccagac cattcacacc acctagaga agctgatggg 840
ttgacttgat aattagggga atatcctaaa gccaatgtg ccgngttcc tnggacagtt 900
tgccaangg naaaattcca a 921

<210> 33

<211> 933

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 33

67/219

ncaagcgcga aattaaccct cactaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60
gccgcictag aactagtiga tccccgggc tgcaggcgtg gtcgcgctcg cgtgctccgt 120
tccctgcggc tgcccgacc ctggccaatg tcctgaatgg gaaacagcac atcctcgitt 180
tgggggaagt cagccactac tcctgtgaac cagatccaag aaacaatttc taataattgt 240
gtggigattt tctcaaaatc atcctgcica tactgttcaa tggccaagaa gattttccat 300
gacatgaatg tcaactataa agtcgtggag ttggatatgg tggaataatg tagccagitt 360
caagaggctc tttaacaagt ggactggaga aagaactgtt cccaggata ttgtgaatg 420
gaatatattat cggaggiggc gggccgacac tcacaggctt cacaaagaag ggaaatigct 480
ggcctctggt tcaccagtgg ctatttaaac aaaagcaaga ggaaagacgt cgaatgacat 540
ggctagtcgc cgtaccagta aacgttagtg cagtcataac ctltcacttg aggatgtttt 600
cagtgtgtgg gatgccctca taaagaigaa aataatgaac aataaatigc catggacccc 660
tcaaaaaaaaa aaaaanaann nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnngg gnnnnnnnnn 720
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 780
cncggggggg ggnnnnnnnn nnnnnnnccc nnnnnnnngg gnnnnnnnnn nnnnnnnng 840
nnnnngnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnngg gnncccnnn gnnnnnnnnn cnnnnnnnnn 900
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnc nnnnnngggg ggg 933

68/219

<210> 34

<211> 945

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 34

agttatgcaa ggnngaaatt aacccgtcac taaagggaac aaaagctgga gctccaccgc 60

ggtggcggcc gctctagaac tagtggatcc cccgggctgc aggaattcgg cacgagggcg 120

gccagaagaa ggagagacit cggagcacia tgccagcatg gactttgcag acctccagc 180

tctatttggg gccactctga gcgatgaggg actccagggg ticccttgigg aggccaccc 240

agaaaatgcc tgcagtccta ttgccccacc acctcagcc ccagtcaatg ggtcagtcctt 300

tattgcactg cttcgaagat tcgactgcaa ctttgacctc aaggctcctaa atgctcagaa 360

agctgggtat ggtgcagctg tggtagacaa cgtgaattcc aatgaacttc taaacatggt 420

gtggaatagt gaggaaatcc aacaacagat ctgggatecc atctgtattt atcggagaga 480

gaagtcaga giacttacga gctctttttg tctacagaaa gggggctcgg gtgcttcigg 540

tcccagacaa tagcttcccc ttgggctatt acctattcc ttctactggg gattgiagga 600

ctgctggttt tgggcatgg ggaacagtat tgatagttcg ttgcatccag caccggaaac 660

ggcttcaacg gaacagacit accaaagagc aactgaaaca gattcctact catgattatc 720

69/219

aaaaaggag atgagtaiga tgcctgtgcc atctgtctgg atgagtaigg aggacgggga 780
caagctttcg ggatacttcc ctgggtggcnc caaggcnita ccaacagtcg ctgtgtggga 840
ncccttgggg tcaattcaga acccggaag aacctggccc caancngna aaanaagcct 900
ggtccaaccg gggggggcct tggggggain aagggaaaaa ggnan 945

<210> 35

<211> 975

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 35

gtcgttgttn ningnanngg tnnnaatnaa ccncacgta aagggaacaa aagctggagc 60
tccaccgagg tggcgccgc tctagaacta gtggatcccc cgggctgcag gctcctcttc 120
ttcctcctct tctcctcct ctccctcctc ttcctcctct tcttctcct ctccctcctc 180
ctcttctct ctctgtgtgt gcgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt 240
tattaactaa gigaatgtgt atttaccatt tctttatga aaacgaaccc cacactgttt 300
gtctccctgg taagtagtat ctccagttaa atgaggcccc tcccggcctc tgcttctgag 360
ttcagtcita gaggaccagg gatttaaaca ggttgcagtg gacacagtct tccctacat 420
gttctccacc tcatccagtg tacacgcaca tagcgtcct ttctaaaaca ccaagaacct 480

70/219

tggaattgcg tgagttctccc cttagcttctc aataaacact gatttttttt ttctccagaat 540
 ctgaaaacta actacacaag gaaattatit tcaaatggct gctcagtttt ggtaggcttgg 600
 gctatataca ctgtcccaaa acctggctgg actttnaaaa ganacataata ctitaaatct 660
 aaagcacttn cacacaagan atccagagat tcacaatcaa aaggggacac tgatgtggga 720
 attctccaaa atactcaaaa aggcatgaat ttgtnttgaa tttagtttct gggagaattc 780
 ttcttttctt tcataataaa aatagctccn atngaagggc tggaataagn aaacggaaca 840
 atggcaaagg cctaagtnca aagggggggg ggnccggggn accnnaant tcggccccct 900
 anaagggtga agccgggaan nnancaattc caactggggc cgggccgggt tntaaanaan 960
 ggccgggtga acntg 975

<210> 36

<210> 1036

<211> <212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 36

cgcacattaa ccttcaactaa agggaacaaa agctggagct ccaccgcggt ggcggccgct 60
 ctagaactag tggatcccc gggtctcagg ctggagagat ggatcagcag ttaagaacac 120
 taactgttct tccagaggct ttgagttcaa ttcccagcaa ccacatgggt gctcacaacc 180

71/219

atctgcagtg ggatccgatg cctcttcttg gtacacacaa ctacagtgtc ctcatacata 240
atanataaac ctttaaaaaa agatacataa ctgcaagtaa ttaanaaaaa aaaaaaaaaa 300
ctcgaggggg ggcccgggtac ccaattcgcc ctatagttag tcgtattaca attcactggg 360
ccgtcgtttt anaangtcgt gactgggaaa accctgggag ttaccecaact taatcgccct 420
ggcaggcana tccccctttc gccagctggg gtaatagcga agaggggccg gcaccggatc 480
ggcccttccc aanagttgcg gcagcctgga atggcgaatg ggaaattgta agngttaata 540
ttttgttaaa attcgggnta aanitttgtt aaatcagcnn atttttinaac cnntagngng 600
naaangggca aaannnenta aaaatnaang gnittgcanc gagtcanggt tnnccatnt 660
nncagattgg gcnaaaaagn ccnccaccga tagncntgg caacaantgc gnaccgggaa 720
tggcgaatgg caaatngtaa gcnntaanaa tttggttaaa aattcgcgtn aaaattttgt 780
taaaatccag ccccantttt taaaccaata gggccgggga atccggnaaa angggcccn 840
nngnaattca aaaagantaa anccgggnaa aaggggttta aatngnnggt ncccantttt 900
gggaacaaan agnnccccc natittaaagn aacnnggggg cccccaacgg nccaaaagg 960
gggaaaaaac ccggnanaan taaggggngh anngggcccc ctaaangng aaccatnnn 1020
ccccnaanc aaagg 1036

72/219

<210> 37

<211> 1023

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 37

ncaagcggga aattaacctt cacgtaaagg gaacaaaagc tggagctcca ccgcggtggc 60

ggccgctcta gaactagtgg atcccccggg ctgcaggttc tatacatigc ctacagtgat 120

gaaagcgctt acggtctgtg aagttgctgt cccggagggtg ggggttccat tctacaaaga 180

gaggtggcgc tccttccttg gcatccagtt cctccttcag gctcaaacac catctccttt 240

cttcaggacc tgcacttaat gtttgaggct gtctctccag tccctctgag caggaggggt 300

aatggtagat gtacagcggg gggggcccgg tacccaattc gccctatagt gattcgtaatt 360

acaattcact gggccgtcgt tttaacaagt cgtgactggg gaaaaccctg gcgttaccca 420

acttaatcgc cttgcagcac atcccccttt cgccagctgg cgtaaatagc gaagaggggc 480

cgcaccgata gcccttccca acagttgcgc acctggaatg gcgaatgggc aaatgtaagc 540

gttaataatt ttgttaaata gcgttaaatt ttgttaaata agtcatattt ttaaccaata 600

ggccgaaatc ggcaaaatcc cttataaaat caaaagnata gaccgagata gggttgagtg 660

ttgttccagt ttggaacaag agtccactat taaagaacgt ggateccaacg tcaaaagggc 720

73/219

gaaaaaccgt cnannagggg ggatggccca cnaacgtgaa accaatintc cctggnggga 780
agangitttg gggnaaggaa gtaaactggg ggaanccctt aaaagggggg gaccccgaan 840
tttggaggcc ttcnaggggg ggaaaagccg gngnnaaagg tgggggnga aaagggaagg 900
gggaggaaaa gggaaaaggg aanggggggg gtaagggggg ttigggaaaa tttangggg 960
taaanttggg ggggaaaann aaaaaaaaaac nggggggggg tttaaatingg ggggtaaaag 1020
ggg 1023

<210> 38

<211> 979

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 38

aagcgcgaaa ttaaccctca ctaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtagcggc 60
cgctctagaa ctatgggatc ccccgggctg caggagtaa tggtaggaca gaatggatgc 120
cacttgacac tgtgctgat gacaagtgc agccataaa aaggttgact tgcttgcaa 180
cacatgtgt tcgttggcat tttctcagct tctctcact acctctgggt ggagatgggc 240
accttctgtg ggcctgggct gggggccacc cctgctatgc aatggagagg caaaggcaga 300
ggtccaggaa taaggaggct tctaccaatg attttgitta atggtagctg acagagatat 360

74/219

tgtatggttc tctggagagc tcccciggaa aaccttacct ccaaccacac aagggcitcc 420
tcccagagag cgctcgctgg gcagcaaggg acacactccc atacttgcca agcataatcaa 480
gtacccaaag attggcagaa aagatcctgg cctgaccacc cagccacatc cticagggct 540
ccaccggatt gactgtgtgt ctgagatgga gagggctttg tgacatttaa gtcctttca 600
gaaatgcctt atacggtag aagccaaagg tttatgtcag catggcagag ctccagagac 660
cgaagccttc ctggagcctt tcgttactgg cagcgttcct tccgaagcca ccgggginca 720
ttccacagat cgtattaagg aggagctcna caaaanctcg tggggcnagt tticagcaag 780
ggcgatagnn gntgcttgca accatganc ctagcaactg gccnnnnngaa nnaginggaa 840
anaaannanc ccgnagcan tcnagggggt ntaagnanag gggncaancc anggnnnngn 900
antgggaant tgggatgcga tngnaaantn ccgnnaaan ccgggttgaa ancgganagt 960
tgaaaaangg gtcgggatt 979

<210> 39

<211> 1112

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 39

aaacggcant anccctnact aaagggnacn aaagctggag ctccaccgcg gtggcggccg 60

75/219

ctctagaact agtggatccc ccgggctgca ggttgaatat taactcgtgc cagcaggatga 120
aacaaaaaga aaccttctgt cgtcgtagaa gaatatitcg cccaggcigt gcgacgacat 180
tcacagcatt tcaaaccaga ccatctctgt aaatagctga gtgcctaata aaccattatt 240
ttggtaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaannaa aaaaaacncg ngggggggcc cggtacccaa 300
ttingccctat agtgagtcgt attanaatic nctggccgtc gttttanaac gtacgtgnac 360
tgggnaaacc ctggggttac ccannttaat gcgccttngg gtnanntccc cctttgcgcc 420
agctggngtg aataagcgaa gaggccngga ncattggccn ttnccanaa aattgngcnn 480
nnnnatnggn aaanggnaaa ttngngggg taanaatttg ngtnaanagn ngcgcginaa 540
anntnaggn gaaangcggg gcannttna gchaaaaggg ccaaaaaggg gannaaancg 600
ccngangatg agaanaggat aggacngnn gaanngnag ggatgaggga ganaatnnng 660
naanaanggg nacngnnagg aagaaaggnn agngnaagt gganaganng acaaagtinga 720
gagaagnana gngggagang agggacggag agggaanaan ngagaganng nggagntann 780
cgggaggttn angnggntnn ggagagnaga gngnghanag gnngaggaga ngagaggng 840
ganggaagag acgaaagngg gaggnnnann nnggggatgg ggagnngnnng gancagnna 900
ggggangaca ggtinntgan tgggggnaga atngagantg tgnagnagg gntnnatata 960
gagagtgna gagaantggg gganagnign gacnnngaga taaggagaag ganacngacg 1020

76/219

aganggngaa gnagnagag tantgangaa agaaanacga gagaagagag tnannancnt 1080

agatanacga ggngaagnnn agnnacgngg tc 1112

<210> 40

<211> 1026

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 40

aagcgggaaa ttaaccctca ctaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggctggcggc 60

cgctctagaa ctagtggaac ccccgggctg caggggacga gatgctcagc atggtagatg 120

aaggggaggg aaaacccatg agagagtga atggtcagag aatgggagct gattgtgaca 180

tggaactgca gagagaagca cagactigaa acatcgctaa gatgtgtgca tacaaaaatg 240

aagcaagtta tgctaagtac acacagtgtc cagcacattt tattttcact ttgggttttg 300

aagacaaagt ctcattatgc agaccaggtt gactttgaat tcagatctgc ctgtctctgc 360

ctciggagta ttaggaatga aggtgttatg tcaccatgcc cagcctctta gtatatitca 420

gaacagttaa tactgcatga aaggctattg taaattcccc tcttaattat tgcttcaatc 480

aagttagaaa tgctttcaig tattaaagac aatgttttta atggcaagaa aaaagttaatg 540

ttttattttt atagttaaata agccaatgat tacnattttt atgtaaaaaa aagnactaat 600

77/219

gtagaatttn ggccgaatat aaaagiggng ttgtgatana attaaaaaat tagggggcng 660
gggttnagcc caatgggana gcgcntgncc gaaggaagnc acaaggnncnc ggggtanggg 720
nnccccagnc nccggaaaaa aaagaccnncn ganaanaaga nangaaaaaa cncnagggg 780
gggggncccg ggtinancna aanicggccc cnaanngggg aagnccnaaa gnannaantt 840
cncnngggnc ggnnggggttt aacaaanggc ggnngggcnng ggggaaaaac cccgggggga 900
nnnnccagc gnganttngg cnnggngggg ggnaancccc cennnnnnng ccnggngggg 960
nggnnnatng gngnnnggaa nccnngcgnn nngaaagng ggannnncna anngaannng 1020
gggncg 1026

<210> 41

<211> 1044

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 41

aagcnngaaa ttaaccctca cttaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtggcggc 60
cgctctagaa ctagtggatc ccccgggctg caggcgagtt tttttttttt tttttttttt 120
tttttttttt tttttgattt ttatggaaat titaattggc aaatttaaaa aaataagttt 180
gtaaccatta ttttatatag aaatatitcaa ctitcccaag atttctcaca aacagnggta 240

78/219

caaaagttag ctctaaattc atccaaggta ttttaagaac taaatggnc tgcacttgat 300
tgactccagt ctacatgatg ctgggaagga agcctaggac ctigcacatg cncagtaaga 360
gcittaatgc caagccacag gcccatccn cagttgacnc cttatcaata atcttcatct 420
tgggagtttt cnccaagaat caattcacag gngtggcag tctttctcta cctcaaccct 480
accagtgng nctaaatcan cagtttagtc catttcggga aacaaaccac ttgtcaaacg 540
nggaaatgaa atgaagagat cttagtagtc aggnattntg gtaccanccc aactgggggg 600
gncaatagta gaaatggctg taaacaaaag ngaatctaan cnaagggggg ggcncggttn 660
ccaaanncgn cccaaaangn ggagngcgga aacaaaaaat cngccgggng gnccgttata 720
ananangttg gggganngng gnaaaaaccc tgnggtgttn gcngaaantn attcgcccg 780
tgggggggan aaaaccacnn ccttggganc ngggggggaa aaaaagagaa aaaagncccn 840
ganggggggg gcccggttan cccaaattcg gcncnaatn ggagnaggnc ggaaatnga 900
aatcccntg ggccggnccg ttttnanaan ggnccgggga nctgggggga aaaanccng 960
gggggntaac cccaaccctt aaancggccc ttngngnga naatncccc cttttgnca 1020
aggcggggng gnaaaaaagc ggag 1044

79/219

<211> 997

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 42

aagcngaaa ttaaccctca cgtaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60

ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggcttct ttiagtgccg gctcagtggc 120

tttatcgctc aagagagaca gccggtaaca gataggctgc cctctgctc acttttctgt 180

ttcacagaca caagggtgtt ttgtcccaag aaagcctcct ggcttagctg tgtgactaaa 240

tgtatattgc cctcttcagt ggaccctat tctcgagggg gggcccggta cccaattcgc 300

cctatagtga gtcgtattac aattcactgg ccgtcgtttt acaacgtcgt gactgggaaa 360

accctggcgt tacccaactt aatcgccctg cagcacatcc ccctttcgcc agctggcgta 420

atagcgaaga ggcccgcacc gatcgccctt cccaacagtt gcgcacctga atggcgaatg 480

gcaaattigta agcgtaata ttttgtaaaa attcggtta aatttttgtt aaatcagctc 540

attttttaac caacaggccg aaatcggcaa aatcccttat aaatcaaaag aatagaccga 600

gatagggttg agtgtgttc cagtttggga acaagagtcc actattaaag aacgtgggac 660

tccaacgtca aaggggcgaa aaaccgtcta tcaggggcga tgggcccact acgtgaanca 720

tcaccctaata ccaagttttt ttggggncga ggtggccgtn aaaagcnact aaaatcggga 780

80/219

acccctaaaa gggagcccc cggttttagaa gctttnaagg ggggaaaanc cngggggaac 840

gtgggccnag aaaaggnagg ggnggnaaan cggaaagggg ncggncgctn aggggannag 900

gccaagggnn aannggntng ngntgngggg nanncnnnn nnnanncnn nngggggnga 960

aaanncgggg gnaaaaacgg gngnnnnaag gnnnggg 997

<210> 43

<211> 1019

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 43

aagcnggaaa ttaaccctca cttaaaggaa caaaagctgg agctccaccg cggtagcggc 60

cgctctagaa ctatggatc ccccggttg caggcgaact ccagcattc tgctcttggt 120

tttgtttgt ttctgcgt aacctctggc ccactctca aaggcaagat gtccagtc 180

gtcccgcg atagtattaa ttgcgcctc atcttggtga gtggaaagac gaaagagtc 240

ctctctccc caaacgactc tgccctgac atcgcaaagc acgtgtatga caactggccc 300

atggactggg aagaagagca ggtcagcagc ccgaacattc ttcgactcat ttatcaaggc 360

agatttctac acgggaaacg tgcacctag ggagcattaa aatttcctt ttgcaaaaca 420

acagtgatgg catttggtgg ccagagagac cctggccaga gcccaattca caaggtcaga 480

81/219

gaaaccggga gaaaactiggt gagagcaact gctgtgtgat cctgtaacat cgtcgccagc 540
gcagtgtggc agtctgttac cactgcgggg acagaggaga ctcggcagct tccgganacc 600
tgtgggacag tcgcccgcac atcnaggact gaaccactnc atgagctctg tgalctctcc 660
tcacaaagtt aaaaggaacc aaggaacatt tcncagttct ggtcctttan tccngtnnet 720
cttgtctggt gtttgagcca nctignaaat ggcacagggg gtcttcnaag ggggnaaatt 780
agcgaagtct tctnaagggg gggtttctgn aagggggggg ggcccgggia anccaaattt 840
nggccctaan aaggngngn nggnaatina caannttcaa ctggggccgg nggtttttta 900
aaanggtcgn tggnnnnggg gaaaaacctt gggggggan cncaaanttn naanngngnt 960
ttnnngggna annncnctt ntggaaagng ggggggaaat ttgggnaana angggggg 1019

<210> 44

<211> 952

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 44

agctngaaat taaccctcac taaaggaac aaaagctgga gctccaccgc ggtggcggcc 60
gctctagaac tagtggatcc cccgggctgc aggcgagttt tttttgtggt ttggtattta 120
tttgaaccac gtgatctcgt gtagtttggg ctagcctcaa tttaaactta aacicttaac 180

82/219

cttccttcc t ccactctgag tgaggggctt gggggatata ccaggctcta attcttttta 240
ctttactttt ttagatgtac ttacgtcact ttaatgtgtat gaacgttttg cctacatgca 300
tgtatgttca ctgtgtctgt aggcctctcc taggattaca gacagtgttg agccaccatg 360
tggtgtctgg ggaatggagt ctgggttcctc ttcaagagca acagtgttct cggcccctgg 420
aagtcaggtt ctaataacctg ttaggtaagc agtgttgggc tgatcagatg caaagtgatt 480
tagcccttat cataacagac tgtcagtcctc ggcctccagg cactccacca cctgtctactc 540
cagtigaagt gtcctgccag gtgaccttgg ctgggctatc ggatcatgtg aaatacagac 600
cctgtctaaa ggaacaagct tgcgggnitg agagaggctc ancggttaag agcacctgac 660
tgctctccag aggtccgagt caatcccagn aaccacaggt ggctcacaan canctntaaa 720
gagatccgaa gccncttct gggggaacng aaganancta cagnnacta nannnaanaa 780
aaggngaann aaacntnann aaaaanaann nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnggnnnnnn 840
nnnnnnngnn nnnnnngnnnn nnannnnnnn nnnnnnggggg ggggggggngg nnnnnnnnnn 900
nnnnnnnnnn nngnnnnnnn nngnaaaaann nnnnggnnnn nngggnaaaa tg 952

<210> 45

<211> 993

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

83/219

<400> 45

aagcgcgaaa ttanccctca cgtaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60
ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggcaaac tggatgaaac ttigtctctaa 120
ggggaatttc attttaaagt ttacctttac cagagcagga ggcgtagagt cagctctggg 180
gaaggagtgg gtaacttcac gacacictca ttctccgcac ttaactgctcc acctgagtag 240
ctgtaaagga acttgggcctg ggatggggctg gcaggcagtg tctctccttc atgggcctat 300
ggctgaatca aacaatccit ccatagcaca tgcttaacce tggactcact cttaagtcctc 360
ttctttccca ttctgctaca aagtcaggct ccctaataac atgtiaactgg agctgccttg 420
tcaacagaga aagaagaaag ctaacgaata cccatgatcc tattcttcac cgtccatgtc 480
tcgatgctcc atctccttcc tggatccctt tgttgctttc tagaattttc accaactatc 540
actcgantta ntagtccaat ctgtcttgaa agaaaaataa agttgaacaa agcaacaaaa 600
nannaanaan naaaaaaaaa ctcggagggg gggcccggn cchaattggg nctannagng 660
ngggggnaat aacaatgang gggggtingit tnnanaangn nggggntggg gaaaacnctg 720
gggtngancn naattaatgg gncingnagg naaagggccn nttinggggg agggggggga 780
nagaagggna gggggnccgg nanngngggg ggcnnnnngn agnnntgggg gaggnnggan 840
tggngnaagg gngnaagng ngannnggn naagnatinn gngaaaaaan ngggggnaa 900

84/219

aatnnnnngn aaannggggg ggnantgggn taangnanng gggngnana nggggagaaa 960

angggngnnn ggaagnnnaa annggnggnc ggg ' 993

<210> 46

<211> 1033

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 46

aagcngaaa ttaaccctca cgtaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60

ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggcaagt ttagtcctag tgcccacatn 120

aagtggttca cagctgccct gtaaccccag ctccagaaga tccaagaccc cctctagcct 180

ctgagcacat agccccatgc atacacacat cacatacatg atttaaaatt aagtaagcct 240

tttaggcctt atatttaatt cacctattaa atgcttagac accttcaaga aatttggcaa 300

gtttgaagta ataagggaag gaaatgagta ttggttagt aaaacagcct caagacagac 360

acctgggtca aatgiatgtg gcagcagcat gccaaaggccc tagctccagn ttactgggtga 420

gaaactggag cttagagagag accacataac ctgggagtga gtcataatga aaaccaagtg 480

gcagacctgt ttcaaaagta taacctcagg ggttggggat ttagctcagt ggtagagcan 540

ttgcctagca agcacaaggc cctgggttcg gtccccagct ccgaaaaaaaa anaaaaaaaa 600

85/219

aactcgaggg ggggccnggt nacccaatin gncctanng tgnngciat tanattinant 660
gggccgggcg ttttaanaan gtcngacng gggaaaaccn ngggggting ccnnanntan 720
angggngtgg gaagcgagat ncggccntgt gggggagntg gggnnngata ggggnngngg 780
gncnngnnn nnggantcgg gccntgnnn nanggagng gggnggngg gaantggggn 840
ananantggg ananttinga nngngngtna gnnnnngng gnggaangag ttngggggtt 900
gaagntntgn ggggaggaan nngngnggg antnttgaa ancggaggaa ggngngaaa 960
ngggngagn anngcngng aagangngaa naaggngng gncggggan ngagggnnn 1020
ggngttttt ttg 1033

<210> 47

<211> 1005

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 47

aagcnggaa attanccctc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60
ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggaggct gccgttintg agtttnagtc 120
cttgagaggc tgggaaggca cagagctctg gctctgcact gtcttactg agtgactagg 180
tgtgagccct ttacattaga gggaacctgg ttgagctca ctgtacttt gtgtggcggt 240

86/219

agtgttccat tactggcccc tctaagtaat ggtcttcaca gtgcacagca agttcccagt 300
gtgtagaaag ccatacacca ggatgtgggt caaccatgaa gatgtggcat tgcagacagg 360
ggaacatgtg gatgcatggn taccaccttg agcagccccct gcagtgtgctt gtgttaacac 420
aaaagtgttt agcattctgc cgnTTTTATA tttatgtaat aactctttaa agccattcag 480
atggataact atttaatttc ttaaagacag ttgtaaaggt ctctctctga ggacaatgac 540
ttggtaaaac tgggggcaca gccagtccca gacactggtc gtggnTACAG tgggnTTTT 600
gggctcaggn tcaacacgca tcagagtagg actggggncA acangtggtg gngtgtgca 660
aacaggnngg cncTnganca gcccaggncC ttTggagagc acgtncTctg gcaccaaggn 720
ccctcngntn tgggaagggg gaaaactttc acaagggaAa tggngncaA gcttttAnnc 780
cncngaaggn cntggngggg gggcangggc aagngggggc gggnggggga cnnntgnttt 840
gggggggnann ttntgggggn cngaggggnn naaancgcN ccctgnaggn nggcggaggn 900
gggtgnnann naccngttgg agnaagagcg ngggggntna agggnggttg naaggatgtg 960
ggncggaacg ttnggggaag tnggaagagn nagggnganc cgcgg 1005

<210> 48

<211> 975

<212> DNA

87/219

<213> Rattus norvegicus

<400> 48

aagngcgaaa ttaaccctca cttaaaggga caaaagctgg nagctccacc gcggtggcgg 60

ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcagggtcat acttaggaat ttctcctact 120

ctacactctc tgtacaaaaa taaagcaaaa caacaacaac aacaacaaca acaacaacaa 180

ccataccaga acaagaacaa gaacaacaat ggtttacatg aacacagctg ctgaagaggc 240

gagagacaga atgataatcc agtaagcaca cgtttattca cgggtgtcag ctttgctttc 300

cctgaaggct cttgggtgaca gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt 360

ggtgtgtact tgtttggaga agtacatgtg tacacatgtg aggacctggg ggcacctgga 420

ccagaacgaa caagggcgaa cccctttcaa atgggcagca ttccatgga agacacactt 480

aaaacctaca acttcaaaat gticatatc tatacaaaag aaaaatagat aaatataaac 540

atittgaagt tgtagcattt ccatgaagac acacttaaaa cctacagggg gggcccggtg 600

cccaattcgc cctatagtga gtcgtattac aatcactggg ccgtcgtttt acaacgtcgt 660

gactggggaa aaccctgggc gttacceaac ttaatcggcc ttgcagcaca tccccctttt 720

ggccantggn gnaatagcgg agangcccgc accgattggc ccttcccaac anttggcggc 780

nnctgaaatg ggcggaatgg gccaaatttg ttaaggcggg naaaaatttt ggttaaaaaa 840

88/219

ttingcgggtin aaaatttttg ggaaaaacca gcccnatttt tinaanccaa taggggggga 900

aatinggggaa aaaaccccc inataaannc naaanggaat naggccccgg ngaaangggg 960

ttignaattgt tgttc 975

<210> 49

<211> 949

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 49

aagctcgaaa ttaacctca cttaaaggna acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60

ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggattag acttaccgct accaaacaat 120

tctttactta gattataggt gccctcctcc cattgttagc atgggggata ttaggataat 180

atcacittaa gataacacat gaggggttgg ggatttggct cagtgggtga gcgcttgcct 240

ggggagcgca aggccctggg ttcgatcccc agctccgaaa aaaaaaagaa ccaaaaaaaaa 300

aaaaaaaaaa ctcgaggggg ggcccgttac ccaattcgcc ctatagttag tcgtattaca 360

attcacitggc cgtcgttita caacgtcgtg actggggaaa accctggcgt tacccaactt 420

aatgccttgg gcagcacatc cccctttcgc cagctggcgt taatagcgaa gagggccgca 480

ccgatcgccc ttccaanag ttgcgcacct gnaatggcga atggcaaatt gtaagcgtta 540

89/219

atattttgtt aaaattcgcg ttaaattttt gttaaatacag ctcatittttt aaccaatagg 600
ccgaaatcgg caaaatccct tataaatcaa aagaatagac cgagataggg ttgagtggtg 660
ttccatttgg nacaagagtc cactattaaa gaangtggac tccaacgtca aagggcgaaa 720
aaccgtctat caggggcgat ggcccactac gtgaaccatc accctaatca agtttttttg 780
gggtcgaggt ggccgttaaag cncataaatcg ggaaccctaa aggggggnccc ccgatitaga 840
gccttnangg gggnaanccc gggggaaacg tgggcggaga aaaggaaggg gaagaaaacc 900
gnaaaggnan cnggggcgct aaaggggnct gggaaaattg tancgggnn 949

<210> 50

<211> 958

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 50

aagntcgaaa ttaaccctca cttaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtagcggc 60
cgctctagaa ctatggatc ccccgggctg caggaattcg gcacgagatc atggctgcag 120
tcagatctcc gtgtctctg tggaggttcc agttgagcac tcggcgagca cggcgggtct 180
gtactcgggt cgcagcccag cgccactccg atgtctgtct cgcgacgtgg tcccagccct 240
ttgaagtggg gcagcctcgc cgccctttca gctccgaggc agaattctgt agctcaaaaag 300

90/219

tcaagaaacc tacittitaig gatgaggagg tccagagcat cctcaccaag atgacaggcc 360
tggacttggc agaagacttt caagcctggc tgtacaacca ctggaagcca ccaacctaca 420
agttaatgac ccaggcacag ctggagggag gctacgagac tgggcagttg aggcagctaa 480
agtacgatta aagatgccac cagtictggg aagaacgaaa gccaataaat gatgtgittag 540
ccgaggataa gatcttggaa ggaacagaaa caaacaataa tgtgtttact gacataatgt 600
ataacatacc acaccgggaa cgttttattg ttgttagaga accaagtggg cacactacgc 660
aaagctttca tgggaaagaa cggggacang gigaataaaa ttattttccc gaaagaaggt 720
cgtagagttt tgccaccagt aatttttcaa agntgagaac cttagacca tgtacagcca 780
agaccgggca tgctgatgin cctcnaatct ctgtgttgcc cagtttttga gccagattcc 840
antggggtat anccaagggg inntcaccca gaccnnngg aggnitttng nccggnctg 900
ggnaaanang gggttnttac ggggccaana anggcancit ttggggggga atgggggtg 958

<210> 51

<211> 979

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 51

gcaagntcga aatnaaccct cactaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgaggtggcg 60

91/219

gccgctctag aactagigga tccccgggc tgcaggagat caaacactcc tggttttgat 120
ctgtgagctc attatcacat gtiagggaag aancaaaactg tgataatgag ctacacagatc 180
aaaaccagga gtgtttgatg tttgcactag gagctcctga acaaataaag tttagcaatt 240
gcagcataaa aaaaaaaaaa aaaaactcga gggggggccc ggtaccaat tcgccctata 300
gtgagtcgia ttacaattca ctggccgtcg tttacaacg tcgtgactgg gaaaacctig 360
gcgttaccca acttaatcgc cttgcagcac atccccctt cgccagctgg cgtaaatagc 420
gaagaggccc gcaccgatcg ccttcccaa cagtgcgca nctgaaatgg cggaatggca 480
aattgtaagn gttaatatit tgttaaaatt cgcgttaaatt tttgtttaa tcagctcatt 540
ttttanccaa taggccgaaa tcggcaaaat ccttataaa tnaaaagnnt agaccngat 600
agggttgatg ttgtttccag ttgggaaca agagtccact attaaagaac gtgggactcc 660
aacgtcaaag gggcnnaaaa accgintnat caggcgatgg cccactacg tgaaaccgtc 720
accctaance aagttttttg ggggtcgaag ggtgnccgn aaaagcactt aaatcgggga 780
aaccttaaaa gggggaggcc cccgatitit tagagcttgg acggggggga aagnccgggn 840
ggaacgttgg gnggaaaaaa gggnaagggn anaaancng nnaaagnag gggggnctnn 900
aggggcgngg gaanagnagg gggggnnngg gggggggnga gnagcgagna aagacncggg 960
gggnanngan agggggggg 979

92/219

<210> 52

<211> 951

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 52

aaggtcgaaa ttaaccctca cttaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtaggcggc 60

cgctctagaa ctatgggatc ccccgggctg caggcacata tctaagttag ccaaagcacc 120

ttagaagcag aggctacaca gcttttctct gctatccatt ttccttacc ttcctacacc 180

acctctacag ccaaagaagg gggaggtagg tgctttagc cccagcccca cttagcactg 240

atgtcctacc cctccccagc actgagcagg caagtgtcc aagacctctt cctagggaca 300

gccagcctgg ctggcacatt tcccaacaa atgtccctg gccacacggg gcagctctca 360

ccacctccgg gctggccaaa cagcagctg cgagtcagta agtagtccga ggctagcagt 420

ctcccagcca gctctcccgg gatgtcctg ccagcacagg gttcagcagg gcatgcatg 480

cccaggcaga gagaatgagc catgtgccc ttctctgctc aggnccctt gtctttggg 540

ttaagtgtaa gacgggggtg gtgaaggctc cacattgtca gtgtcagga atgtgaactg 600

ggagaacgct gaagccataa tcccaacta ttcccttgg ctggaatgcc aagtaatcag 660

ctgggccaat ctacagccag actccagccc tgcgtctca aatgtgggaa gtttagagaa 720

93/219

gaggccatga agaatcigaa tggattgcac agttactcct gtgggttcat cttaacitggg 780

aaanantttg tictgttagat ataataaata ttaacctagn attgggaaaa aaaaaaana 840

aaaaaaaccc nngggggggg gccnggnanc cnaatttggc ccnaaaaagg ggggnngggn 900

ttaaaattcn atngggnggg ggttttaaaa aggnngggaa tnggggaaaa c 951

<210> 53

<211> 962

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 53

gcaagntcga aattaaccct cactaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60

gccgctctag aactagtgga lccccgggc tgcaggaatt cggcacgaga ttatactata 120

aaggttttca gtggatcaaa aigtctact atggaatata tggggagcca gccttaatca 180

taaataggag ttaactgagg gtggacaaga gcaggctatt cttacaaatg ttctgcataa 240

aatgatgcat tatataatta agaaaagggt atttcatttt tcttatgtgt atgggtgitt 300

tgtatgcatg tgtgtctctg tactgtgtgt gtgcagcacc ctctgagtta agagaaggga 360

atttgggaact agggatgcag atgggtgtgn agatgctatg tgggtgtagg gaatagaagt 420

caggccctct agaagagcaa ccagigtctt taactgctga gccatcgccc tateccaata 480

94/219

tttataatit taatititit ggaaacaccg cctcagttat cctaggctgg ccttggaata 540
tgttctgtag ctgagcatgg ccttggaact tctcctctc ctaactccag cctccctgcc 600
ggattacagg tgagtgcia catgctcagt ttatggcatg ttgacattia aggccctggt 660
tcactaatit taigcaaaga tctacatctc tagcccata catatattat ttaagggggt 720
tantititata atgggatata nggtanatgg gccittagcat tccnatcaaa aaataaaaig 780
ggatttanga aaaataggaa tataggcagg aaacntnct ttttggnitg gccngaaggg 840
atggaaatnc atgggnccctg gnaaccanac ntaagggcaa accattaagg ncacctgagg 900
ntaanggagc ccccagginc ccaaaggaan ttttggggga ccnggaggcc ctaaccggga 960
ag 962

<210> 54

<211> 991

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 54

ncaaggtcga aatancctc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60
ccgctctaga actatggat cccccgggt gcaggcaaag tggaattcaa gttatgtcta 120

95/219

ttatagatgc taaactgaag cacctactga tctctacctc catcagatta atgctctgtg 180
tcccaaatgt tcgtcagtgt tgtgtgacgg tgtttagaaa ttggcctatc atatcagtac 240
cttcaggcat gtgatataaa accgctatgt gatgttactt atggtattta atgaactgct 300
cactctacct ttatatactg aaactagttc atcagcgtgg tacaaaattt aatattttat 360
caaaactatc attctggcca aatattgtta aactaatttt aaagggcgga atgcattagc 420
atttactgca ggtgagcaaa aaaaatttat ttggcctttt ctgggaaatc aaaagggtcat 480
gctgtcttgc cagccgtgag taccceaaat gtcaatataa ttaatagata attganataa 540
aaatttcgtc aactgggcat ctgtaattca gtcccatata caacttcgtc ctitccaacc 600
ctgggtgtaca gggttgtgcc ccttcanant tggghtgtac gtccaccat atagttaggt 660
ttgtattnac ctaaaacaaa cttingttana gctgggtgga aancagccca tcggaactag 720
ccccatccaa tgggtcacggt attttagatt ccttaatcna acgnncaaaa cnagnngtca 780
gttccacaaa ncttangngg aanaaaatng ggccaaggga aaagacnatt gaagnaataa 840
gccgctttan aggccaaggg ggggtggcgn cccgtaaccc ggggggncct ggggngccg 900
gagnnccca aaccaccgag gtcaccnggc cgnattnaaa ccnaacgnt tcccaggag 960
ccaggggctg gcttccaagg cggtnacnt c 991

96/219

<210> 55

<211> 956

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 55

aaggccgaaa ttaaccctca cttaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtagcggc 60
cgctctagaa ctatggatc ccccgggctg caggcacagc caatggcta tgacaacctg 120
accttctcc cagacaacaa ggccaagtgg tcaccacct ccaaccgaa gccagagccg 180
ggccctgagc ctgtccagc gcccctccgg cctcctagtc ccatgtcttc cagtcaccg 240
ccccccagct ccatgccctc tagccctcag cccaaagctt ccgggicttc caagacagtc 300
caggcagggg acagtccttc agccgtgagt ctatcctgga ctaaggagcg gcggccgna 360
ggggagggcg gctacaaggg ctgtgtggtt cgggcaagga catcgggggc agaggctgat 420
gtggtgttct tcaacgaacc caccgccgac gtgggacagc gccagtgcct cgggaagtga 480
ggggagcgat gatgatgatg acctgacca gaagaagagt ctccgccttg gcgcagtcgc 540
agacaacact tacgtctagc tcagcgcccg gactctccgc cccaagccac tcccccttc 600
tcctctaatt aaatagcact ttctgaaaaa aaaaaaaaaa aaacttcgaa ggggggcccc 660
gtaccaatt cgccctatag tgagtcgtat taaaatttca atggccgtcg ttttaaaaag 720
tcgtgactgg gaaaaacctg ggggttance aacttaatcg gcttgnagca aatccccctt 780

97/219

ttggnanntg gggtaatagn gaagaaggcc cгнаacggat tggnncttcc caaaaatttg 840

gggcagnttg aaattgggga atgggaaatt gtnaagcgt taaaaatttt gggtaaaaaat 900

tcgggggtta aaatttttgg tnaaaatcaa ggncaatttt tttaaaccna aagang 956

<210> 56

<211> 969

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 56

aagctcgaaa ttaaccctca ctaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtagcggc 60

cgctctagaa ctatggatc ccccgggctg caggcccctg gagaggigaa tagatatgaa 120

ctcaggaac tgggaaggcc tgggttccta gggatattga ggcaggtact agatgtgatt 180

gctgaaagtc cccggggcag agigtcttt cagcgtaagg ataaacacac acacacacac 240

acacacacac acacacacac atgtgcacc cctgattatt tatgaatga aatatttgig 300

acttaaaatt tttaatgcaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaacnc gggggggggc ccggtaccca attcgcccta tagtgggtcg ttttanaatt 420

cacitggcngt cgtttitanaa cgtcgtgact gggaaaaacc ctgggggttac ccaanttaat 480

cgccttgnag naaatcccc ttingccagc tggggtaata gcgaaaaggc ccgcaccgitt 540

98/219

ggcccttccc aaaagttagg cncctgnaat ggngaattggc aaattntaag ngtnaatatt 600
ttgttataat tcngtataa titingtnaa ancagcccca tttttaacc aatagggcng 660
gaaatnggn aaaatccctt ntaaatccaa aagantagcc cngnaangg gtgantgtt 720
gttcccgttt tgggaacaag nggncnccta ttnaangaac ggngggactc ccaacggta 780
aaaggggggg aaaaaaccgt ctaticaggg gggagggccc ncnnggggn anccattnac 840
ancannatca aagntttttt nggggncga ggtnccgga aaaggnctt aaatttggga 900
acccnnaag ggggnccccc ggattttaga gnntingacn gggggaaacc cggggaaacn 960
ttgngatg 969

<210> 57

<211> 888

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 57

aagcncgaaa ttaaccctca cttaaaggaa caaaagctgg agcncaccg cggtggcggc 60
cgctctagaa cnagtggatc ccccgggctg caggggggag acgaggtgtg gctggccgtc 120
aacgactaca acggcatggt gggcactgag ggctctgaca gcgtcttctc tggtttccca 180
ctgtttcctg actagaatgg caggctgggt ccagcacccg gacgcccgc tegtccctc 240

99/219

tgctttcccc atcctcactc agaccctctc cttcaggaag tccaccttgg ttcttgacct 300
atcagccctc tgcctcctca gagtttcctt gggaatcact gactgggttc attccagtgg 360
ncagttttatc gagaccttta tgagactatt tttttttcag gtgggaagag agaaaaataa 420
atagatcact aaataaaaaa aaaaaaaaaa aaaacncgag gggggggccc gtaccaatt 480
cgccctatag tgagtcgtat tacaattcac nggccgtcgt tttaacaagt cgtgactggg 540
aaaaccttgg cgttacccaa cttaatcgcc ttgcagcna tcccccttc gccagctggc 600
gtaaatagcg caagaggccc gnaccgatcg accttccaa cagttgcgca gctgnaatgn 660
cgaatggcaa attgtaagcg ttaatatatt ginaaaattc gcgttaaaat ttttgttaaa 720
tccagcccaa ttttttaacc caatagggcg gaaaatcggc aaaaatnccn taataaaatc 780
caaaaggaat agaccggnga ataaggggtt tnaagtggtn gntnccaagt ttgggaaana 840
agaaggccca ncgaatttaa aggaacggtg ggantccca anggtcaa 888

<210> 58

<211> 931

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 58

tagcgcaagc ncgaatttaa ccttcactaa agggaacaaa agctggagct ccaccgcggt 60

100/219

ggcggccgct ctagaactag tggatccccc gggctgcagg ctccaatccc aacctttaca 120
atgatggcaa ggtttgttta agcatcctga atacgtggca tggaagacca gaagagaagt 180
ggaatcctca gacatcaagt tttttgcaag tgttggtttc tgtccagtc cttatatattag 240
tagctgagcc ttacttcaat gaaccaggat atgaacggtc tagaggcact cccagtggca 300
cacagagctc tcgagggggg gcccggtacc caattcgccc tatagtgagt cgtattacaa 360
ttcactgggc cgtcgtttta caacgtcgtg gactgggcaa aaccttggcg tiaccaact 420
taatcgccit gcagcacatc cccctttcgc cagctggcgt aatagcgaag agggcccgca 480
ccgatcggcc ctccccaa ca gtgcgcanc tgaatggcga atggcaaatt gtaagcgta 540
atattttggt aaaattcgcg ttaaattttt gttaaatacag ctcatTTTTT aaccaatagg 600
gccgaaatcg gcaaaatccc ttnataaatc aaaagaatag accggagata gggttggagt 660
gttgtttcca gtttggaaca agattccact antaaaagaa cgtgggannt ccaaacgtcc 720
aaaggggcn aaaaaaccgt cctatcaggg gcgnatgggc cccactaacg gtggaaacca 780
tcaaccctta aatccaagnt tttttttggg gggtaaaggg tgcccgttaa aaagccaccc 840
naaaatcggg ggaaccccci aaaaggggaa gccccccgg gatTTTtaaga acccttgga 900
cgggggggaa aagcccgggc gaaacggtgg g 931

101/219

<210> 59

<211> 964

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 59

nnaagcncga aattaaccct cactaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60

gccgctctag aactagtgga tcccccgggc tgcaggtgag ctcttgctgc agcttctctc 120

ctctgccctg gtttctgcci gacattagaa agcagcccag gagaaaatcg actccccgga 180

cgctgatttc ctgtgtcacc ttttgatgag tgttcctggg ctctgccatt ggttttcgcc 240

tccttgcgac acacacagga atggccatct ccagggtgtg gcggaaccgc ctgtccttca 300

tggccatcat gatcctcgtg gccatggicc tgtccctgca tgtcctacgc tctcctctgg 360

aaggctggac aacctccact gacgtacctt acctgcagaa tcggcttctc acaacttinct 420

gtctgtggca aggcaggcac attggcttct cttagagtgt tacaactttc ctggagctgg 480

gggtgctggg gataacctca gttggccttg ccctggctag ggcttggtgt gtatggagcc 540

ctggctctcg catcttcgtc cctctgnctc tctccttgc ccagtgcac agtggatgca 600

gggcacaatg gcgggctagc cgtgggcint nctgggggca atcncctgat gctgggtgng 660

acggngggaa cttaaagncct ctctgncntt tccttgggng gtggaaangg gctccangnt 720

102/219

cctcncctttt cctggggggn cctgngcctt tncataancnn ctngtggacn ctinggcecca 780
aggaccntta actccaaanc aatcntnngg ccinaatggg cctaaggggt naaanggnic 840
cccaancnaa ccgaaggana aaagaaaggg gancaangga aaaccaactg ggggnaacaa 900
actggcctna agnceccaagg ncccntnaac aaaaaagggc cctaanngng gaaangggga 960
aatg 964

<210> 60

<211> 868

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 60

ggcaagcncg caaattaacc ctactaaag ggaacaaaag ctggagctcc accgcggttg 60
cggccgctct agaactagt gatccccgg gctgcagggc ctggtgctga ccatttttg 120
taacctcttc cctcagcct acagcggcgt gaacgagcgc acgttcttgg cagtgaagcc 180
cgacggcgtg cagcggcggc tggtagggga gatcgtgcgt cgctttgaaa ggaagggtt 240
caagctggtg gcactgaagc tagtgcaggc ctccgaagag ctactgcggn gagcattatg 300
tcgagctgcg ggagagacct ttctacagcc gattagttaa atacatgggc tctggteccg 360
tggtaggcat ggtgtggcaa gggctggatg tcgtgcgcgc ttcnggncc ctcatagggg 420

103/219

ccactgaccc aggggacgcc acgcccggta cgatccgtgg tgatttctgt gttgagggttg 480
gcaatgctca gagagagatc gctcttttgg tccgtgagga tgagcttctg tgctgggagg 540
acagcgcggg acactggcta tatgatagac gctaaatcaa cattaccaat ctggagggttg 600
ttgggtcttct gtgatcttca catgaacatg ctatgtgggt gcaagtcac ccaacccagt 660
ctgtccaggg gcaaccactt ccacatccca cctctatatt cctttcataa taaaccgcag 720
aaaacccttt tgcgctgggt cagtttcaag acaaaaaaaaa aanangnnna nnaannnnn 780
nnnagnngaa nngnnnnnnn nnnannnnna aaaaaaacct cgaggggggg ggcccgnaa 840
cccaaattc cgccccaaan aggggntg 868

<210> 61

<211> 887

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 61

tnggcaagcn cgaaattaac cctcactaaa gggaacaaaa gctggagctc caccgcgggtg 60
gcggccgctc tagaactagt ggatcccccg ggctgcaggg agaactagtc tcgagtttta 120
ttttattttt ttattttcta tttttttgcg atgctctaac tgtaaagtag actgaagaca 180
aaaggaaaa cacaacaaga cacagtctt cgagcagcaa ccaacagaga gtcagagtca 240

104/219

caggagaacg cctcacgcag ccgcgggtta ccagggttgt gcaagcatct cccagcatcc 300
ttgtgctgct gctttaggct caaccagtct cgccccgggc gtacacgttc tacactgtaa 360
gaattggacg ctccgtgcat ccgtataaac gtgcaagggt tgctttgctt ggggtggacag 420
cagccccigt accatitgaa ctcatitgtt aacagcaatt tcgcttgcaa aaaaaaaaaa 480
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa actcgagggg gggcccggtt cccaattcgc cctatagiga 540
gtcgtattac aattcacitg ccgtcgtttt acaacgtcgt gactgggaaa accctggngt 600
taccctaactt aatcgccitg cagcanatcc cctttcgcg agctgggtta atagcgaaga 660
ggcccgccacc ggatcggccc ttcccaaaag ttgngcagcc tggaatggcg naatggcaaa 720
ttgtaagngg ttaatatitg gttaaaattc gcgttaaatt ttigtgttaa tcagccncat 780
tttttaacca atagggccga aatcgggcaa aaatccctta ataantncaa aaaggattga 840
nccgnggat taggggttga antggtggtt nccagnittt ggaaana 887

<210> 62

<211> 864

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 62

tnccgcaagc ncngaaatta accctcacta aagggaacaa aagctggagc tccaccgcgg 60

105/219

tggcgccgc tctagaacta gtggatcccc cgggctgcag gaattcggca cgagccaaga 120
cgaicttttc ctttaggttg aatatttgaa tcttatgtgt atcaaaaaag aaatgggttt 180
tagtactttc tgtgccctga tattttgtat actcctgact tccccagtgt gctggctctg 240
agggcgtgtg gagagctctg taatgccctgg ttgggcactg ctgagggggc tgccgagctt 300
gtttctattt catacttttt atactttgtg gaaaaagtc aaggaaaact atagtatttg 360
aggaaccag tgtgaccaag gnaaaagatg attcaacaa gcagcctcca tgggnacttg 420
gcgtgcactc tgggttccag ttatctcgag ctgctccacc cctccccagc ccaacggttc 480
tcctcgcaaa cgcttggatc taagaagcta gtctcctggg ttagctgatg cctgccctgc 540
tttctggtta cttacattct gtttcttgct ttaaaagaaa gacaagactg ttggaccagt 600
attgcaattc tgtagagtcg ttctttatta aaacaataat gtgattacca aaattggcat 660
atttaaggcc taatgccatt ctaataaagg caaaaatttc tttttacnac taaaaaaga 720
aaananaaaa nanaannaaa aaaaaaaccc gagggggggc ccggtacca attingccna 780
tagggagncg tattacaaat tcactgggcc ggnctgttta aaaaangtcg gtnactgggg 840
gaaaaccctn gggggttacc caaa 864

<210> 63

<211> 864

106/219

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 63

cncaagcncg aaattaaccc tcactaaagg gaacaaaagc tggagctcca ccgcggtggc 60
ggccgctcta gaactagtagg atcccccgga ctgcaggggg ggggtgttat gtgtacagtg 120
gaatgaagac cagaagaggg cattgggtac agggagtga gatccacat gcaggggctg 180
caaatccitt tgaagagti cttagagcat attttgttg ttgttggtt tttgtttgtt 240
gttttttttt ttgtgaaac agggttttcc tcgtatatac tggctatttg aactcagatc 300
tactgcctc tacctcatga gtgciggggt taaagacctg tgccaccata ctgagctctg 360
tagtaacagc tcgtaacctt ggaaccattg gcttaagtct gggnaaacnc ctaatagtagg 420
ttatttctaa gacctggaac ttggaatcat tagttttggt gggtattttt cagttgagtg 480
gaatgaatca ctcaaattac tgaagttata atcttccaat taaaaaaaaa aacatctgcg 540
ggttggggat ttagctcagt ggtagagcgc ttgcctagga agcgcaaggc cctgggttcg 600
gtccccagct ccgaaaaaaaa gaacccaaaa aaaaaaaaaa gggggggccc ggtacccaat 660
tcgccctaaa agtgagncgt attacaattc acnggccgtc gttttancaa cgtcgtgact 720
ggggaaaacc ctggcggtac ccaacttaat cgccttgcag caacatcccc ccttttcgcc 780
aactggcgta atagcgaaga ggcccgcnac cgantggccc tttccccaaa ccaagttggc 840

107/219

gcaagcctgg aaatggcgga aang

864

<210> 64

<211> 899

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 64

caagctcgaa attaaccctc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60

ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggaaatc ggcacgagag tgtaaccgct 120

gtctgcctgg ttgaacttct gggatcaaga aggtgtgttg aaatcggitt cctttgggag 180

cggtagggcac agctaacgca actgtgaaca gacacgtctc acacaatcac ctgctgtctg 240

cactcggcct gggtctgcct ttgcccgccc tgcctccgc catagctgtg tggtaggcct 300

tagaatagat ggggaggctt caggtagcag ccgtgggact gaccaccgct gggcttgggg 360

cgctttggct gcaccctgc ttcttaagt ctttaagat tgcccatcc aagccatggt 420

ccccactcct ccaactccac ccttgggcca aagcttagat tgtaatctcc ctccctctg 480

gaaattggcc gtgggtgagg aattcagggc ttcccgctc ccacattta tcaaggggtg 540

ctgctttccc ctctcaagt cccttgttgc ccgtaccac ccaacattg ctgtggccag 600

aagccaccag atgaggttgg aagagcctgg cctccctcaa ttagctcgg accacaatcg 660

108/219

ttcacctgcc aacagccctgg gaagggagcg ccgggtcctc gggccctgcc aacaaccatc 720

agcccttgag ctttgagctc aggtctagag gtgaacagag cagtcaacgg gggcgaatca 780

agaaggggcc aancgntcaa ggggtccctt gggaatataa ntgccttaga agaaaagggc 840

caatgcngga gaagntcctt cgggtggan aatggggtn c tgnagtttgg gtccctttg 899

<210> 65

<211> 941

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 65

gcaagcgcga aattaaccct cactaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggctggcg 60

gccgctctag aactagtga tccccgggc tgcaggcact ttctaaata gaaaangga 120

gtcacaggc ggcagagcac agaaacactg gtgggtgtgc ccagccagat gccagagttt 180

ctgtgctctg ccgcctgtga gctaccactt tcctaaatag aaaatggcat tatttttatt 240

tactttttgt aaagtgattt ccagcttctt gtggcgctt aggggtggccc tgtttctgca 300

ctgtgtacag taatagatgc acacggttga cctgtcctgg ggcctagggt ggttgtacac 360

tgagcatcag ctacagtaat ggcatgcct gtaacgatgc taataaaacg tctccttctt 420

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa ctcgaggggg ggcccgttac ccaattcgcc ctatagttag 480

109/219

tcgtattaca attcactggc cgicglitita caacgtcgtg actgggaaaa ccctggcggtt 540
acccaactta atcgcccttgn agcacatccc cctttcgcca gctggggtaa tagcgaagag 600
gcccgcacg atcgcccttt cccaaacagt ttgcggcanc tggaatgggc gnaatgggcn 660
aattgtaagc ggittaaata aatttggta aaaattcgcg ttaaaaattt tggtaaaatc 720
cagccncaat ttttttaaac ccaananggc cggaaaatcg ggcaaaaatn ccccttataa 780
aatccaaaaa ggnattagac ccgngaata aaggggttna aatggttgn tneccagttt 840
tggaacaaa gaggtccac ctaattaaaa gaaancggng ggaccnceca aanggtcaaa 900
aagggggga aaaaanccgg gctatcaang ggggnangg c 941

<210> 66

<211> 877

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 66

aagcgcgaaa ttaaccctca ctaaaggga caaaagctgg agnccaccg cggtggcggc 60
cgctctagaa cnagtggatc ccccgggctg cagggtctga gctccctacc ctgnaagagg 120
ctgtgggctt gctcgtagcc taaccctca ccgacagttt gatggcgaag agacggctct 180
tgtgcgtaa gaaggacagt tctcacnccg cagaataaca ggagacagaa atgttcaatt 240

110/219

aaaaagagtt tactttagac cacagcctgc tgtgtgcca ctactgccc tgtctgttg 300
gaggcgggat caggggagat aggcggatgg ctgtctcatt aatgtgctat gcctagttag 360
tgtggaggtg ggagaaagga ggtgtgtgtg tggggggggg cgggggatct tgttatgtaa 420
ccctgtgctt tctgtccttg aaccnctggg gtgggaggaa ccctattatc tgcctctcgg 480
ataacaaagg acggaatgat tattctgggg acncctaagt ggggagaggg gtgaggcatt 540
tgcaagtac ccctgggacc tggaaccctc aagaggagcc taatgtctct gccacagga 600
acatctgtgg nticanctact tcttgitttg tccctgtatg cttttctctg cactcaaatg 660
gggtgatgag ggaaggcggg gggctctcaa atcctgictg tgaacttttc ctttcttgct 720
gatgnactt cttegncaag ccaaggctctg aaagaaggag tcttcccagg ntgnctgnng 780
nttgccggag atcataaagc ananggtcag gggctggncn ccctgggnnn caagtnccgg 840
ctttggccng tgggatgccn ggggcaaaag gacctng 877

<210> 67

<211> 895

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 67

caagcgcgaa atnaaccctc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60

111/219

nccgctctag aactagtggg tccccggggc tgcagggtggg acgcctggatt cgcaagcccg 120
atttgggtcag tcggtgaagg ggcttctcac ggaaaagggtg aacacctgcg gcaccgacgt 180
aatcgcgctc accaagcagg tgcigaaagg ctgcggaact tctgagctgc tggggcaggc 240
agctcgaaat atgggtgctac aggaagatgc catcttgac tcagaagata gtttaaggaa 300
gatggcgata ataacaacac accttcagta ccagcaagaa gctattcaga agaacgttga 360
acagtcgcct ggaccigcaa gaccagctgg agtcatttac tggaagtagc tctcgccaga 420
acagcagttg gacttctttg gcctgatgct gagaaggacg cgggccttag ttccatttt 480
catctccaaa aattcatcta gaaaagactt gtgaaaagaa gaagccaagt gaccaaactg 540
gaaagcactt ctttaagttgg gagtaactca tcttcaagtg gttttatatt aaaattaata 600
ggttgaatca tttagcatca gatccctctc tctctctccc tctgtgtag cccgctgctt 660
ttgaactcat aatccccgtg ccgtagcctc tcaagtagtg agattaaaaa ccaccatacc 720
tggccacttg agtaacacat tagtcgcaga tacttgggag gctgaggga gggaggatcc 780
tgtggagccc cnaacgggtg agtccatcca gggnnacaca ggaagaacct atctccaaga 840
aggagaaggg gcaaggggaa gggggcttct aactggggat cacgtgagaa gtgnt 895

112/219

<211> 947

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 68

tntgcaagcn cgaaattaac cctcactaaa gggaacaaaa gctggagctc caccgcggig 60
gcggccgctc tagaactagt ggatcccccg ggctgcagga attcggcacg agctacttic 120
cagtgiaacc atagcctgct tagcttgggg taagacttag tagaaaatgg tgcttcagta 180
aaccgcttac ticcagtcac aatcaccttg ttgctgtggg acccgaccct gtttgagccg 240
gctgccctca tcccactta aatcaaagca gctggctagt cccctgltt ccttcccaaa 300
tcctgttttc atgtacaaga caaaataaag gactcaattc tccctacaaa aaaaaaaaaa 360
aaaaaactcg agggggggcc cggtacccaa ttgcacctat agtgagtcgt attacaattc 420
actggccgctc gttttacaac gtcgtgactg gggaaaaccc tggcgttacc caacttaatc 480
gccttggcag cacatcccc tttcgccagc tggcgtaata gcgaagaagg cccgcaccgg 540
atngcccttc ccaacagttg cgcantgna atgggcgaat gggcaaattg taagcgtaa 600
nattttgta aaattcgctg taaattttg ntaaatcagc tcatttttta ancaatnggc 660
cgaaatcggc aaaatccctt tataaaaten aaaagantag gaccgagata gggtttgagt 720
gnigtccna gttttgggaa caaagangtn acacctatit naaaagaaac gtgggagctc 780

113/219

ncaacggtina aaagggcgcg aaaaaanccg gtctaatinca ngggcggaatn gggcccaacg 840

gaanggtgaa acccaatgga anngiaaaic naaggattnt tnnggggggn cncgaaggtn 900

gccgggaaaa ggcacctaaa aatncgggga ncccntaaaa gggggng 947

<210> 69

<211> 895

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 69

caagcgcgaa attaacctc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60

ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggttttt tttaaggat ggaaactgtt 120

tatttatggg taaagaatag ctgagagaac acttgaattt gatgaagctg tgccactttg 180

caggtcgggt tggtttatca tcaaaaggct caaaataaaa gttacttcac agaaaggagg 240

aggaagcaat aagttaatgc ataataagcg cttttacaag catactttat aggaaggaga 300

ttcataatta tagccaatat attctagaca gtaactttga ctatttcaca agaacataaa 360

attactgagt atggaatggg tggcagacac gaccatggac gaagaagggc atatgttgtg 420

tacctggcca tggatcacag ctccctaagct ttggaactac attttggtg tgggacacaa 480

gaacataaga ttttctctag gagttaaggg agtggccaat gggctgatag tgggcagtgg 540

114/219

agaaagaaca ctgtacattc ttaaaagict gccatagttg aagagatgag tgaggtttgt 600
agttaacaaa aacatggact ttttccitit taatacaggt ttaccigcta atgcaaattt 660
agaaggaatt taaccaagtc agtaaaaaatg ttgaaggctt tcaccggaac caatgactgt 720
tttggcctct ttattcaaag tacaagaatgg atgtaccaa aactgggatt tgagantgga 780
aaatttccaa aagggggaga aaaatcngg ggttatttan aggttaaaaa accggggaag 840
gatttggtta aaggccanca g gataggtnc aggaccaat tgggaacca tatnc 895

<210> 70

<211> 896

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 70

ncaagctcga aattaaccct cactaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60
gccgctctag aactagtgga tccccgggc tgcaggaatt cggcacgaga agaactcaag 120
agagtagcca ccatcttaaa gcaaagtagc aggtggggaa aaggtgggta gaggagatgc 180
tacttagggg gtgggatttt ccagtcaggg ccathtagac acgggaatcg ctgaggcttt 240
cagtcgatgg ggctttcttt ttcccttgc tcatctctcg gcctcaggag aggtattaac 300
agtattatca ccatttatat cctagctgtc ctgagccaaa tctgccattg gaggtgtctt 360

115/219

ccctgtgttg gtictccaag ggacgttgca tggggatttg tgggggcagg gcagcaaggc 420
cttgttctct aaatgtccag aaacactcta attaccatit ccacctgggt gcctcacaca 480
ctccccagag gggagggttaa catctctgcc ccatttccct catgttcctt ggcttggtca 540
ttccctacct ttctattttg tgttaaactt ggcttttttt ttttttcat attgaaaaga 600
tgacattgcc ccgagagcca aaaataaatg gggaatggaa aaaaaaaaaa aannnanaan 660
nnananannn annannaaaa aaaancccg nngggggggccc ggtaccaat tngccnaaa 720
agggggnggn atnaaaattc cngnggccgg ncggttttaa aanggnccgn angggnaaaa 780
ncccnngggg gttnaccan nttaaancgc cttinggagga aaaatcccc cttttngca 840
aaannggggg gaaanaangg aaaaagggcc cggaacnggn atggcncttt tcnag 896

<210> 71

<211> 929

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 71

cncaagcgcg aaatnaacc tcactaaagg gaacaaaagc tggagctcca ccgcggtggc 60
ggccgctcta gaactagtgg atccccggg ctgcaggaat tcggcacgag aatagagctt 120
ttgtgcggcg gcagcggcgg cggcgtctct ctgatttgaa cgccgaacag cggtagcttc 180

116/219

tcattctgtgg cctgacctcg aagcctaaga acagagcggc gagatgacgg accggtacac 240
catccacagc cagctcgagc atctgcagtc caagtlacalc ggcacggggc acgccgacac 300
caccaagtgg gaatggcttg tgaaccagca tcgggattcc tactgctcct acatgggtca 360
cttcgaccic ctcaactnac ttgccattg ctgagaatgn agagcaaagc gcgcgtgncg 420
ttttcaacct ggatggagaa aatgctgcag cccagcgggc cgaccggcgg gacaagccgg 480
aggagaactg aggcgagcgc ttcccagcct tcccacalcg ccatctgtgg accgatactc 540
ctgactcctg cttctcgacc attctccggt ggggtgtatcg cctgacctgg cttaccigtg 600
ggacgggttc gaacaagtca tcgagagact gtcgggtctc ctggggaagc tgtgcgggaa 660
ggagtgatcc cagaatcggg caaagcgaag ggagaagact gcctggggaa tggatgacgc 720
attccgagtt cagcttttcg aataagttga tgtcgttctc gccttttttn tttttttaa 780
tanntannat acataaaagt tagggatttt gntaaaaaaa aaaaananaa aaaaaaaact 840
tcgnaggggg ggggnccggg taccceaaat ttccggccct aaanaaggng gaagtncgn 900
attiaaaaaa tttcaacttg ggccngntg 929

<210> 72

<211> 944

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

117/219

<400> 72

ntcaagcgtc gaaattaacc ctacantaaa gggaacaaaa gctggagctc caccgcggtg 60
gcggccgctc tagaactagt ggatcccccg ggctgcaggc ggccttgga cgcctcgatt 120
tctatagaga agctggcggc tggtgccagt ggcttctgag ttctcgattc ttggacnccg 180
agaaggctgc aaggccatgc tggcttggcg cgtggcacgc ggcgcgtgga gggtccttc 240
gcgtggctgt ccggcctccg ggggcgcggc tcggcagggg cggctcccgc aggccttgc 300
accaccgcg gcctgctgcc tgggctgcct ggccgagcgc tggcggctgc gtccggccgc 360
gttcgccttg cggctgccag gcaccagccc gcggaccac tgnctccggc gccgggaagg 420
cagccccgga gcccgcagcc ggaggagatn ccgccggcgc agnccctan gnncccggtg 480
ggtcggggcg agcgcaacca nctcgatga aaatccatgg acaatccaa atttgttgc 540
aatgacaaga attancttg cccanigtg gggctatctg attcttgaag aanatttta 600
tgttgacna gggigtitit gctttaacta ggactaacgg gatttgttg natgggnatt 660
taatnncnn aaaactnngg cncaatnaaa aatnaagctt tngggaaant gctcttggat 720
cccaactngc ttgnanaaan gttntntaan caaggaatct tgaanaagaa tnangccng 780
nanctaagn nnagaatcct taaattcgaa anincccaag nnaacttaac aggnntaaat 840
tttcaangaa gnatggaaan gggtggaac ggcaggcnga gnnntnttaa nnnnnaan 900

118/219

aaacgagaaa nnnntggnga aaaaaccggg gaaacagant anng 944

<210> 73

<211> 886

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 73

caagcgtcga aattaaccct cactaaaggg aaaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60

ggccgctctt gaactagtgg atcccccggg ctgcaggcca tgcgccact ccacctcct 120

tctcttggg ctltgtgtgg atggacctgt ccatcagctt ggltgtgtgt tcacaaataa 180

ctgacaggcc aggaaggct ctgtgtggc cgcctgagag atggctcaag tactctgtga 240

tctcttgtgg ccagagccc tgtgtgtgtg ctgtatcag acaccttgc cctgtgtgtg 300

tcttaagaa tcattatcca tctgggtcac tacgtctgc tctcttggg catctggagt 360

tccagattc ctctgtccct tcttgggata tgcctttgta tacacatttt tagcagaga 420

ctttccccc ttacaaaggt gtcaacttga aaaatgtttt aaaccacagg atagcacttt 480

caatctaact tttgtggtat ctccatcag aatcatcttt tctatctgt ttttccctt 540

cacgggttaa ggttcacatc cccatggaaa ccagtttaaa tctgcctcag aacaatttgt 600

atcttggga aggaattgtg tcttggagg cccatgtaag tggattctaa gtgggggcca 660

119/219

gctgctcctg tgtgcatgct gggactctgg ggaggagagc cccctggcat acacctcaat 720
ttgccctcag tcaaggtgag gcaaggggtg ctggagtctc ctcancccag caaggctttg 780
ctgtcaataa ggaaggaggg aagaaaagtc ncccgggtggc naatgaggac catagcatac 840
ctaananggc ccaataagaa nggaaacaag tggntacna aagccg 886

<210> 74

<211> 888

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 74

gcaagcncga aattaaccct cactaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60
gccgctctag aactagtggg tccccggggc tgcaggcatg ggcagagttt tcaccaccaa 120
aaacatgtgc ctcaagccag taccgggac cctgaggcca cagaaggga accctccagac 180
acaagcacgg ctgtacagtt tcagagcacc cagcagtcga cttttccatc tggagcacca 240
tccttgaaca aagagctcac ccgccactgg gaaacaacca ttctcccttc aggctatggt 300
ctggaggcta ggcctgtggc tgaggcaaat gagaaacagc acaaacagca aaaagaacca 360
ggagctgggt ctgggcacac aagccitggt gccggtgcta tccctcctgg gccatcgtct 420
tcttctctgt gggcagccat ggtctgtgtg ctgtgcaaca ggaggagtga ctggggcaga 480

120/219

gctcttcagg ttgcagctc tgttatacac ctgttgaacc aagaccccag ggctgttagc 540
aagaatggaa gctcgtgaga gatgacgtgg gagagggtggc agacagactg gcaggctagg 600
ctccatcaac gaactgaatc tgagctcatt tttcttggtg atgttttgaa tcaaagtagc 660
cattatgtaa tctagggaca gctttgaact acagagcctg tgccccgacc tcttagattc 720
tgggattata gatataacct actgcatctg cctcgtcta atttcataaa taaggntaa 780
atttcangg tttgttttg gtttagcgga agaactttat ttagnccaag ccaacctcaa 840
aatncccaa gggaanncct aangncccc aggccttctt taaaaaag 888

<210> 75

<211> 893

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 75

caagcgcgaa attaacctc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60
ccgctctaga acnagtggat cccccgggct gcaggagaa gagatcctgg atcacagtgc 120
tgtccgcat gacagaggag gcagctgtg caatcaaggc catggcaaaa taactggcct 180
ccagggtggc ggtgggtggca ncagtatcc atgagcctac agaggcccct ccccagctc 240
tggctgggcc ctggctgga ctccatcca atttatitga cgttttatit tggttitcct 300

121/219

cacncttca aactgtcggg gagacctga ccttcacn agctcccttg ggccaggcat 360
gaaggggagc catggccttg gtgcaagcta cctgnccitc ttctctcgca gccctgaatg 420
ggggaaaggg agtgggtact gccgtgggtt taggttcccc tctccctttt tctttttaat 480
tcaatttgga atcagaaagc tgtggattcn ggcaaattgt cttgtgtccn ttatnccact 540
caaacccttc tggncctctg tctccatag tcttccann ccaagcacca ntgtacagac 600
tgggggacca gcccccttcc cngccigtgt ctcttccaa acnctctat aggggtgaca 660
agaagagggg gggganggga cacgatccct cctcaaggca tctgggggan gccctgcccc 720
catggggctt taaaccttct ctgtgggggt tctccctgaa aaaatttgn aaaaatcaaa 780
acctgnataa aacganaagn ttataatagg aaaaaaann nnnnnnnna ngnnnnnnng 840
gnnnnantnn annnngnana annnnnnnnn nnanggggnn gggggggggn nnn 893

<210> 76

<211> 940

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 76

nancgcaagc gcngaaatta accctcacta aagggaacaa aagctggagc tccaccgcgg 60

tggcgccgc tctagaacta gtggatcccc cgggctgcag gaattcggca cgagccgcat 120

122/219

ccaagaagac aggtggcagt tctaagaacc ttggtggcaa atcacgaggc aaacactatg 180
gcatcaagaa aatggaaggt cactacgttc atgccggcaa catccttggc actcagcggc 240
agttcagaig gcacccaggc gcccatgttg gactggggaa gaacaagtgc ctgtatgcc 300
tggaggaggg gatagtgcg tacacgaaag aagtctacgt gcccaatccc aaaaactcgg 360
aggctigtga tctggcact agtctgccc agggtgctgt gccttacaag acitttgtcc 420
acgtggttcc tgccaaaccg gagгнаacct tcaactggт agacatggct ttgaagtcct 480
gttgagacca tcggatgacg ggcgaccgga acccaggtca caggagcaag tgatgatgga 540
agtcaagggt cagggtgagg acaaggcttc cacagaagag gcctattgga tggggactct 600
gcaggggcct ttgtgctgtg gttgctggaa anctcttgn agctctggca tgantgtcaa 660
taaagctgna ggaattcctg gaaaaaaaaa aaaaannaaa naaaaaacct cgaggggggg 720
ggcccgggtt accccaaatt cgnccctaatt annngaaanc ggnaanttaa caaatcaac 780
ngggccggtc ngntttaaac aaaggтсггт ngancтgggg naaaaacccc nggnnggtt 840
taccctaaac ttaaатсгг nncтggaga gggaaaattc cccccтttt gggccaaggc 900
ctgggggnaa gataagcggga naaaaggгсс ccgcaaccg 940

123/219

<211> 896

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 77

cgcaagcncg aaattaaccc tcactaaagg gaacaaaagc tggagctcca ccgcggtggc 60
ggccgctcta gaactagtgg atcccccgga ctgcaggtgt tagcctccgg taccggctct 120
cttctttttc aatgtagcgc ttgaagccct agctagagca ataaggtaag gaaactaaag 180
gagcataaat agaaaaagtc aaattatccc tattagccaa tgatatatg catatgagat 240
tctaaacact ttcaggagag tggaaggata caaaaacaaa ttacaaaacc cagtagctct 300
tctctatgcc aataacagca tctgcgaaa gaaatcttgg aaaaccatcc cattcacaac 360
aacctcaaac acgtatacat tegtactcat ccccataaaa agcctaacca aggggttgcg 420
agacctctac aatgatgatt ttacatctct gaggaagac aatagaggat gggaagacct 480
tccacgtca tggactggta gaaticagag tgtggcaatg gtcacgccta aaaaccatgt 540
gcggattcat gacagtgcga ccacctggta atcaaccacc gaaaaatgca aacgagagga 600
cagaaagtat tatitacaaa cggggctgga aaacattgga tgtccacagg tagaagaatg 660
agattagaac cttaaccgt tctcttggca caaaaccaac tcccaccagg tccaagaatgc 720
cagtngaaa cttaacgtct ctgggaacce tgcagactct tggagagcaa tggttacaca 780

124/219

gggagaatcc tcatttccgg cttaatgggg ggagactacc tggagggaaa agtgcccngt 840

ccitccccng gggcttctaa ggaaaccctt cttagaggag gggtaaaaat taaacc 896

<210> 78

<211> 892

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 78

caagctcgaa attaacccctc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60

ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggcccaa ccagcccaca ttigtctctt 120

aaacccaaac agctgtcccc tgtctgtctg tggctttttg ttcatTTTTat ttagtgaagt 180

tttttcagtt aaaccaccgt ggacaaatgt ctactaaga aatccgtgtg aagctgtata 240

gcttacacct gtaattgtag aacgtgggag gctggactga ggggatagca ttgagttcaa 300

ggccagccag agctgtcagc tatatagagt tccaggctga tctcagtcac agagtaagac 360

ccittctcag aaagacaaag aatctaaatg aggtaggatt ctgtgggctc agtggtaatt 420

ggcctaactt ggctgttcac acttgtaagg cccagaattt gatccccaca cccctcaaaa 480

aagaagttag gggatgigaa ctgaattagc atcagtgcct ctgatcctct ctcagccgia 540

gactagaatg acgaggagcc ctggtttaac ctgggcactg ctgcctaccc tctctaagct 600

125/219

cgctttcctc atctgtgagg agcctcggga tggagcctca gggagtgcgg gtggatatit 660
ttatatigtc tattaaaatg taggcattaa gctccaacat ttntgcttgt tacaatttta 720
nggcctatat ttatttgatt aaaaaatgcc cctggcgggg ttgggggatt tagccccagt 780
ggtagagcgg ctignctagc aagcgcaaag gccctngggg ntgggttcc cagcnccgn 840
aaaaaaaaa annannnnna nnaaaaaaaaa aaccnncgag ggggggggcc cg 892

<210> 79

<211> 979

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 79

aagcgcgaaa ttaaccctca ctaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtagcggc 60
cgctctagaa ctatggatc ccccgggctg caggctgaca tgtggcactg gtggtttttc 120
attaccttgg atgtcagagg actttcatig aaacaaaatt ttaigtitga ctggaaaatg 180
ggggctagaa gtatcatgta tggcacaacg gaagactggg taacctccaa acagagcatt 240
catgaaattg tcaacagtat tcgtcccaag tattttcata tgctgtcaca caagaggacc 300
agatgcttga ggaatctccag tctgtccct ctcagcagag aggaaagaca gtatggcaga 360
aaacctgtgt agcttttagct tcaggctcctg ttaaagcatt actgttttga cagcaggaaa 420

126/219

ttccccctgn aactgtcagc ttttccctgt gttactggca ctgttggaat gaggtggaaa 480
gtacacgaat ggatgccatg gtcttgttgg tggtcagggt cctactgccg tgtaatgaag 540
gcctgcagtg cagacactca ctgttttctc tctattcaca gtattctccg gaaacgcatt 600
cgagaggata gaaaggctac aaccgctcag aaggtgcagc agatgagaca gaggctaaat 660
gaaactgaac ggaaaaggaa aaggccaaga ttgacagaca cctaaatgtt catgacttga 720
gactattctg cagctataaa ttttgaacct ttgatgtgca aagcaagacc tgaagcccac 780
tccggaaact aaagtgaggc ttgctaance tgtagattgc ctacaaagnt gtctgtttac 840
aaagtaagct ttacatccag gggatgaaga aagccacca gcagagactt gcaaaccctt 900
taaaningan ggaattggnn ttttaaccan gngggtatga attggaggaa agatgtaaaag 960
naaaatnaat ttagggggg 979

<210> 80

<211> 973

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 80

agncaagcgc gaaatttaacc ctactaaag ggaacaaaag ctggagctcc accgcggtgg 60
cgccgcctct agaactagtg gatcccccg gctgcagggt tttttttttt ttccacaatg 120

127/219

aatatgtctc atttattagg tagaaaacac ttaactgcat aaaacttaca gggaaaaatg 180
gccgtatttg aaaacagcia aaaggatcag agtagaacac agaaccgtaa tgagcagtgt 240
cacggagcac actaaggagg tgtgtatagt cagtccact ggcacctgca ctgtcaaatt 300
cttaagtatt gatttgtact gcatgttttt ccactgggca gatctcctca ctcttcaaag 360
aacaaggag ctgctacttt ctgactgagc ccagcatttc aaaattgggg aactcttggg 420
cacagtgcac cagtaagica gggttgttga ccacaatgga ggggtgtctcc atccttctta 480
tgtggacgca attttggggc tccttcgggc acttcgggca cctctacagc caccgcgga 540
ccggcgggcg ggtttggcgg atttgggaaca acaactacaa ctgcaggctc tgcattcagc 600
ttttctgccc caacaaacac agggcagtac aggccttctc ggcggnactc agaacaaagg 660
ttttggcttt ggcactgggt ttggcacatc gacgggtact ggcactgggt taggcactgg 720
cttgggaanc ggacttggat tcggaggatt taacaccag cagcagcagc agcagcagca 780
gacttcttta ggcggctctc tcagtcagcc tgcacanggc cctgcgcagt ccaaaccaac 840
tcatcaaact ggcagggtct ttctggacca aagcnaantg gggggtgaaa aaangccanc 900
ttggcaaagt gggaccagtt gcagggttc tgggggaaag ggaaagggga tticcataa 960
aaaaaatccc ccc 973

128/219

<210> 81

<211> 1004

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 81

cgcaagcggn gaaattaacc ctcacgtaaa gggaacaaaa gctggagctc caccgcggtg 60
gcggccgctc tagaactagt ggatcccccg ggctgcaggt ttgatttcaa atggatctac 120
actgttaact gaatgatgag actccactgt gattcactcg ttactttaat caaaaaattt 180
cagggatgtc tgtaaatttc agtgttgtgc acaacaagaa gtgctgttgg ttgatttaag 240
gagggaccag aaataatttc tactattcca gtactgaagg aaaaaaata ctgatttata 300
cigtittttta aaactaaata ttaataaagc cccctgtcag aaatttaacc ttaaaaaatta 360
ttttaaatat catcctatat tattagaagg gaactacaag tgactggata aataccaaaa 420
agattcacia gcagcttcat ttaaaaagca caaagagggt ctggtgtgaa atgccccaat 480
ctcaaagtgt ttctgtagtt ctgagtttac agatgtaaaa gctgtccctg gaaggctgca 540
gtacctgtat ctgctgtccc tgggaactac actcgcacca cccagaaac cctgggtactg 600
gatagggtag cgtgggggtg cagctcaga gggggtgagc cacagtcacc caacgggggtc 660
agcttgcaga aagaccaaaa cagggaagg cgagtgggat aattacttaa cagcacattc 720
actctctacg gagtaatcac atatgggttg aaatttgaag agcagattgt ggaatatttt 780

129/219

gacccctggn caaaatccct giactlggag aantttggag gcggacgtgg gcatccacgt 840

gggcggttgc ctttaccac aggnccgtgg gactgggtgc caaaaaggnc ggggttncct 900

ggaaaaaag ccaggncccc ccncggtggc ctggcaaagg accaggtian gggaaaggaa 960

aanccennnn tatntttggn gaacccaaan tttaatncc ccgg 1004

<210> 82

<211> 1003

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 82

aggcaagcgc ngaaattaac cctcactaaa gggaacaaaa gctggagctc caccgcggtg 60

gcggccgctc tagaactagt ggatcccccg ggctgcagga attcggcacg aggctatcca 120

gacgggcaga gttaccacagg agctgcagga caggtacctg gaccacacc cgggtggctac 180

tatcctggac ctcccatgg tgggggccag tatggcagtg gattcccccc tgggtggttac 240

ggagctcctg cccctggagg accctatggc taccacagtg ctggaggaa cccctctgga 300

actccaggcg gaccatatgg cgggtggacct ccaggaggcc cctatggtgg tggacctcca 360

ggaggccctt atggtcaggc acatccaagt ccctatggta ccagccgcc tggaccttat 420

ggacagggtg gtgtcccccc caatgtcgat cctgagggcc tactcctggt tccagtcagt 480

130/219

ggatgccgac cacagtggct atatctcact tcaaggagct gaagcaggcc ctggteaact 540
ccaactggtc ctcatccaat gatgagacgt gcctcatgat gataaacatg ttigacaaga 600
ccaagactgg ccgaattgat gtcgtcggct tctcagccctt atggaattcc tccagcagtg 660
gaagaaccctc ttttcagcag tatgaccggg accactcggg atccatcagc tccacagaag 720
ctgcagcaag cgctgtccca gatgggctac aaacctgnag cctcagttca agcaagcttc 780
ctggttttcc cgaatacigt aaaaggntct ggncaattcc cggccaatgc agctgggaat 840
ggtttcaatc aagggtgggt tnacccaagc tttaanggt gtigaactga aggccttccg 900
gggaagaaag ggtanggggt tgtaaaagg gaaaaaattc cgggntcnag gcitttgaag 960
gganttttgn caacnatgna ggggtttaan ggaingcaat nnn 1003

<210> 83

<211> 1004

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 83

cgcaagcgcg gaaattaacc ctactaaag ggaacaaaag ctggagctcc accgcggtgg 60
cggccgctct agaactagt gatcccccg gctgcagggt gggcagaggg attggccctg 120
ctttgtgacc cctacctgat gcctccttc acaacatgat tgcagccctt agaacctagc 180

131/219

tcagagcccc tcagcacaag ccccgcccc agcagccagc caaagccact gggtagcg 240
gtacatctgc ggacccatcc ctacagctcg atcaaccagg atccctcctt cccagagcct 300
gtccctggga gagcttttgc caccaagggt ctagccctgg actttctaac cacttcttct 360
catgggagac accctggctg gctactncca agggaccagt ttggcttaac ttcacagccc 420
acatccatgg tcacttttaa ccttctttcc tggcagattg ccaggttgct aatctgctgt 480
ccctctggc tgaagcaca gtgtcaggac ctagttagga ggtacaagga gcaggccgtg 540
cttgagtgcc ccattcccc taaccctctg ggttggcgcc tcctctcac tggagaccgc 600
gaactctgna gagagccaaa gcacacagg acccagcagt gtgggttaga caaagctgca 660
gctaagatcg gggagtcctg gnactgcagg ccaggccagg gtccccacct aagccacata 720
atctgcctgc cggagncctg cccccagcc cctcctggg gaaagtgtg cccatttgcc 780
agtgtctgcc caggaggaag gggatctgct tcagagggt tcctgagaac cctgggtccc 840
aagcctnagc tggtaaaggc ctctgggggt ggaaaaggnt tgctgggtgg ggaagnccaa 900
aaacggggaa agttttgnaa naaggngan aaggttttta agnaggngga gcggaggcaa 960
aaagggttt ttagagccaa ggncaanaa atttntttt aatg 1004

132/219

<211> 982

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 84

aagcgcgaaa ttaaccctca cgtaaaggga aaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60

ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggaatca tcgctgaggc cctaacaagg 120

gtcatctaca acctgacaga gaaggggacg ccccagaca tgccagtgtt cacggagcag 180

atgcaggicc agcaggagca gatagactca gtcatggact ggctcaccaa ccagccccgg 240

gccgccaac tgctggacaa ggacgggacg ttcctgagta cactggagca cticctgagc 300

cgctacctga aggacgtgcg gcagcaccac gtgaaggccg acaagcgga cctggagtt 360

tgtcttctat ggaccagctg aagcaagtga tgaacgtta cagggtcaag ccagccatct 420

ttagacctgt gctggccttg tgcatgggg cgtacctggg gcatggcata cacagccgtc 480

cagcacttcc atgtgctgta caagacggtg cagagactgc tgctcaaggc caaggcacag 540

tgacagtggc catgcacagg tggcccagga ggtactagcc cacgcacca cagcagccag 600

actgaaacac agagggtttg gatgggtcac taggatgcag ggacacctct cctgtccat 660

tcttttgaat gtccctggag gagagccccg cccgcctgca gacgagccca ctgggatgga 720

atgatgaccc gggccaaatg cactgaaagg ccgcacaatg ctgttggcct cccagttggc 780

133/219

tgggttccag aagcctgtct ctgcagtttc ccaagaggna gccaacgttc agcctggcct 840

ggcccagcaa cgggcaagan ccaanaatgt intccctgat ggicctcttc aaaacccctg 900

tcccgccctt gtttgtaaac tttignaaca atttgaacca accttgggtt ccccaagctt 960

gggattttga gccacccctga gg 982

<210> 85

<211> 983

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 85

caagcngnga aattaaccct cactaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcgggtggcg 60

gccgctctag aactagtga tccccgggc tgcagggttt ttttttttt ttttttaaaa 120

cttaaaaaca ttttttatit ttttggtttc gagacaggat ctaagtagtg cagattgatc 180

ttaaactcag cctgccctcg accttcaaga gctgggatta aagatacatg acactatc 240

aaccaattca cccaattta tttttcttat atatttaatt gtttccttcc cacttaaaaa 300

atcataacaa aataatagat ttcatgacac ttccaaagga atcatigtac ttigtctaata 360

tttgctatit gttccagtaa tatggagact aaatttagcc actcactcct gnaccagtcc 420

taacttttaa tgtgtttgga ttaaacttgt aatcccaggt atttgggaat taggattgaa 480

134/219

aagggaggct aggggttggg galltagctc agtggttagag cgcttgccta ggaaacacaa 540
ggccctgggt tcggtcccca gctccgaaaa aaagaaccaa aaaaaaaaaa aaagaaagan 600
aaaaaagaaa atgggagggtt acatagtaac ttcaaggcca acctagacgg gggggcccgg 660
tacccaattc gccctatagt gagicgtatt acaattcact ggccgtcgtt ttacaacgtc 720
gtgactggga aaanccctggc gttaccccaa cttaaattgc cntggcagca natccccctt 780
tcgccagctg gcgtaaatag cgaagnaggg cccgcaccga tcggcccttc ccaaacagtt 840
gcgcancctg aaatggcgga atgggcaaatt tggaagcgggt aaanaattin ggnaaaaatt 900
cngngnaaaa ttttgggnaa aanncagccc aantttttta acccaanagg ggccggaaan 960
ccgggggaaaa anncccccta aaa 983

<210> 86

<211> 943

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 86

tcaangcgaa ataaccctca cttaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtggcggc 60
cgctctagaa cnagtggatc ccccgggctg caggtttgca tgcccggcag gtgcagacac 120
acgaaggctc tcagctcgcc aatgagctgg gtagtctctt ccttgaaatt tctactagt 180

135/219

aaaactacga agacgtctgc gatgtgttc aacatctctg caaagaagtg agcaagctgc 240
acagccttag cggggagcgg aggagagcat ccatcatccc ccggccccga tcccccaaca 300
tgcaggacct gaagaggcgc ttcaggcaag cctgtcctc caaagcaaaa gcagccctcca 360
ccctgggctg atccatcgca gacagactga catagtatta tcaataagca tttgtgctgc 420
caciaagact ggtcctttcc tcctttaaaa catatccagg ggttggggat ttagctcagt 480
ggtagagcgc ttgcctagca agtgcaaggc cctgggttca gtccccagct ccaaaaaaaaa 540
agaaccaaaa aaaaaanana aanaacnaga acaaaaaaac aaaaaacat atccagagtt 600
tatttttata atggacttta ttgggctttc aagtgtatgt atatttctga aaaattcaaa 660
cagtggnttt ttttaatggg ttttntttt nattttatnt tantttacng naaaccttta 720
gccactcttc cattaaaggc aaaaatggca anaccaaaaa angaaaagan ganannnnan 780
ananngngan nnaaaanana anananaang aanaagaaaa aaancncna gggggggggn 840
ccnagaaacc caattggccn nnaaaagggg gggaggattn aaanatncna ggngcngnag 900
gnttttaaaa aggcgnnagc cagggggaaa ncccaggggg gtc 943

<210> 87

<211> 939

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

136/219

<400> 87

cgtaagcgn ngaaatnaac cctcacitaa aggaacaaa agctggagcn ccaccgcgt 60
ggcgccgct ctagaacnag tggatcccc gggctgcagg tgacgcaact ttgtcangaa 120
aacgaatgca gtgcctctcc ctgaataagt aancnggcct gtgggaggan atgccgggg 180
aactgggccg tgccgccagg anctctgcca tgtctaccc actctgtgcc ctggcgngc 240
tgcagcagcc cctacggcca ngagccccta cggcctgggg cctcctcttc atcttggcac 300
agaaattgtt caggggaagn ggaaggggct ggggggaggg gcagctgcta tctttgagac 360
agaaagatgc aggcacagca ttcatatcgt aaccatttga atgtttttga ctgttttttag 420
aattcgggcc ctggtggggt ggggtgggtg cctgggaatg gcgtaaggag attccatttg 480
tccagtagat tgcacgttag tgtggggagg ggggtgtggt gccagcaggc agctgctgtg 540
ggagttagtg acaaccagcc cagatcatct ggggtgctcac tcagaggggc tctccgggan 600
cctgtgcctc gnaagtcctt tccgatgaag cctctcctct ccactctgcc cccttccac 660
ctacctggtc agggctagtg cccattttta accctacca ttgancattt caagaaaacc 720
tctggttact gtgctcacc agancaagac gtgctcctca aatncaactt gnatagnitg 780
gcagattaaa acaacattna tncanaaaag aaaannnana aagggggggg cccggaaacc 840
caaatinggc cctaataagn gaancnggaa taccaaattc aatnggccg acgnntntaa 900

137/219

aaaacgnccg nganaggna aaacccctggn cgnaaacn

939

<210> 88

<211> 1014

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 88

nnetcaagca ngnaaatnaa cccicactaa aggaacaaa agctggagct ccaccgcgt 60

ggcgccgct ctagaactag tggatcccc gggctgcagg tcgagttttt ttttttttt 120

ttttctttt ttttaagata atggttttta attgaattat tgagaagaag agacagtga 180

gccctgtttg ctacttacat gaaaagattt taaaaacaat cacngcaca aatacaaagg 240

ggcagggtat gctgtggcat tgaatttcnc ctacttttt ttcttgacgt ctcaagaaca 300

aattaaagtt tccacagcaa atttgttctc aaaangccga atggtgaaac agttacgggc 360

ttcacgttc tagnaatacn ctaatgggtt cctgacgn gcatttgtag gtttccttgt 420

cgtgacacag tcgnaaatg aagaagccca ggggtccac gttttngang cggtcggtga 480

tcacatgtg ctcatggatg aggtatgacn gaggaagta ggtcccgcc ttgatgtcaa 540

taagaagctc caacagttc ngggnggcat aacaanggca gngtncana ggnatcaagn 600

tnncacntga nccaanattn aagggncaa ataagnaaan gaannntgca ngtnnaaann 660

138/219

tcaincacaa tgnittggna ggaaacgctn nccgcaaan ctccaggga acagntana 720
cngnatgcaa ttacnacggg ncnccatcc cacnaagaa gcnaagaaa nctcnna 780
aaatagtcca ggganancga annancnng ngagcncg agaanntaag ngcaactna 840
nacanattt gancgnna accnattga tgaaaaactg anannccna naannaggan 900
nnnacaanca ancacanggn nnaatgnn ngaantaana ncaatgaaga aggtgagang 960
nccgacnc angagaagga acnaganac gngntnnan aggggncag attc 1014

<210> 89

<211> 955

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 89

accgngaaa ctnaaccctc acntaaagg aacaaaagct ggagncac cgcggtggcg 60
gccgtcttag aacnattga tccccgggc tgcaggctg tgcagcgcg gaagtattt 120
ctgcaggga gatgttccc ttgtcgtgc tgaagacag ccagaatcac ccatgttg 180
tgagctga gaattgggag acctacaac ggcacctgt gagctgcgac aactggatga 240
acatcaacct tcgagaagt atctgcacat cgaggacgg tgacaagttc tggaggatgc 300
ccgagtgtta catccgagg agcacatca agtacctgac gtatcccgcg atgcagatca 360

139/219

ttgcacatgg tgagggcaag aggaccgcca agggccgagg gcgaggagga ccgncagcag 420
cagaagcagc cagaaaggcc gaggccatgg gtggcgctgg cagaggtgtg ttigtgtggcc 480
ggggccgggg tggcatecct ggtgcaggcc gaggccagcc ggnacaagaa gccagggcgg 540
ccaggcaggc aagcagtga gcagtcaccag cctgaactga gtccaggaag gtgggtgagg 600
agacctccgg gcgcctttgc gigaagcccc acttggcgtc tgatccagtg aaatccctga 660
ctggccactt actcagtttc tggaagtcc cagtctgatt nactgttaag ccttggatgt 720
cctttgaaag gctggcttct tccaggcttg tttagatttn atgttggagc tgccagctcc 780
gcacaatggg tggtttanc tgcctttccc aagccccac cccctaagtt tttctggttg 840
gaaaaaaaaat taaaggcaaa ccaaccaaca ggaaaaaana anaaanggng gnnntngcag 900
nnanaaanng nnnnnannnn anannnnnnn nnnngangaan nnnnnnnngn annng 955

<210> 90

<211> 964

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 90

cgttaagcgn tgaaatnanc cctcacgtaa aggaacaaa atctggagct cctccgcggt 60

ggcggccgct ctagaactag tggatcccc gggctgcagg acgcgtcag ccacgtttgg 120

140/219

acacgggact gacgcaacac acgtgtaact gtcagccggg ccctgagtaa tcacttaag 180
atgttcctgc ggggttggtg ctgttgatgt ncnigtittt gttttttgtt ttttgtttt 240
tttttggtct tattatTTTT ttgtattata taaaaaagtt ctatttctat gagaaaagag 300
gcgtatgtat attttgagaa cttttccgt ttcgagcatt aaagtgaaga cattttaata 360
aacttttttg gagaatgttt aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaactcgagg gggggcccg 420
tacceaatlc gccctatagt gagtcgtatt acaattcacn ggccgtcgtt ttacaacgtc 480
gtgacnggga aaacctggc gttaccaac ttaatcgct tgcagcacat cccctttcg 540
ccagctggcg taatagcgaa gagggccgca ccgnatngcc ctcccaaca gtgcgcanc 600
tgnaatggcg aatggncaaa ttgtaagcgt taaatatttt gttaaaaatt cggcgntaaa 660
tttngtnaa atcagctcca gtttttaacc caanagncc gaaattcggc aaaatccctt 720
ataaatccaa aagaaataga ccgagatagg gtgtantgt gntccagttt ggaacaagag 780
tccaccta ataaagaacgt ggactccaac gtccaaagg cgaaaaaacc ggncnaatc 840
caggggcgaa gggcccaacta ngggaaacca tcancctaaa ncaaggtttt tngggggnc 900
naaggngccg ntaaaggcnc ctaaaatccg ggaanccna aanngggan nccccnaat 960

tita

964

141/219

<210> 91

<211> 945

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 91

aagntcgaaa tnaaccctca cttaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtagcggc 60

cgctctagaa cnagtggatc ccccgggctg caggaattcg gcacgagggt tacgcggccg 120

ccttgcgcg tttgcgaacc cggggaaacc tatcctgaaa cccaacaage ctcttatctt 180

agctaategc gttgggaacc gacgccgaga gaaggcggtt ctccccctcc agaggcaact 240

tgtatcacgg agatgtcaat gatgatggct tgcagggaag agaataaatt ccgcgacgag 300

gcgtgcagga aagagatcca ggacttcttc gattgttctt ccaaggctca ggaagctggg 360

aagatgagat caatccagga gactctggga catctggaag ttaccnccc caaaaaatgn 420

actaagtgtg tacagagatt tccaataaaa tctcatctga gctgaaaatg gagaaacatt 480

ttcaacgaac tctcatttct gaaagctaca cagaggcgta ttagggatgt ttgcatgnca 540

ttgccatgcg tttttgaagg gtaaaatgag gcaaaacact caattttgct ctctcgaatg 600

aatcgtgttc tggatacgtg tcttgaaata aaaccctcta aaaaaaaaaa gaaaaaaaaa 660

ncgagggggg gcccggtinac ccaattcggc cctatagtga gtcgtattac aattcacngg 720

142/219

ccgtcgtttt anaacggtcg tgactgggga aaacctggc gttaccaac ttaatcgct 780

tgcangcana tcccccttc gccagcggg ggtaatagcg gaanaggccc gcaccggatt 840

ggcccttccc caaaagtgn cgcagctgaa atgggcgaat gggaaattg gaaggggtna 900

anaattingt naaaaattcc ggggttaaaa ttttngnn aaant 945

<210> 92

<211> 968

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 92

aagcgcgcaa attaaccctc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60

ccgtctaga acnagtggat cccccgggt gcaggattcg gcacgagctg gatcccaagt 120

tcttggtgaa cttggaccct tctcactgca gcaacaacgg tactgtccac ctgatctgca 180

agctggaiga caaggacctc cctagtgtgc caccactgga gtcagtgtg cctgctgact 240

acctgcccc gagcccgatg tgggtcgacc gtcagtggca atatgatgcc aaccttcc 300

tgcagtcagt gcaccggtgc atgacctcca ggctgctgca gtcacctgac aagcactcag 360

tcacagccct ggtcaacac ctgggcccag agcatccacc aggctgcct ctgagctgcc 420

tagcaaactt ggaacttcag ggacggccag cagcccttct ggctgagggt ctcataccac 480

143/219

ctaccaaacg tcactaggig tiggcttcit agagggccgg ggctaggita cctttcctgc 540
ttttaccttc tgccttggag acctgcccgc tctcccctc ttgtgcagta ttgaccaggc 600
agctgtggag ctggctgcat gaggtgggg gtgttccac aaggttttcc attgtcgitt 660
tccccagag tcagtcacca cacttctaca gcctttctgg gtctccaigt ccactcagca 720
gcatgagaac tcagggtccc atcaaagcat ctctgtgita aaacccatt gtgtcataa 780
tctggagaat gtgggaggac acagggaan cttcaccat acatacgggn tctccagica 840
aaanggggtt tcaggctggt gcggcctaaa gggaatgcgg aaaanggtgc angnattcag 900
nctggaaatt aagggggaaa ggattttaag gcntgggaag aaaggggcaa gtaagggaat 960
tcaggagg 968

<210> 93

<211> 958

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 93

aagcgcagaa attaacctc acgtaaagg aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60
gccgtcttag aactagtga tccccgggc tgcaggaatt cggcacgagg cccttcaa 120
ttttactaag actgtgcgtt ccaaccatga aatgtaggga gtcaagagct atctcactga 180
ggacagggtt tgtttggatg ctgggttcct cacaagatgg gtgatatgtt taacagtgg 240

144/219

gttctgtaaa gtcaccagat gtaactgtaa accacactgt gtcacaaaag gctcacagca 300
cagcatgtgt gggcactcag ggtcagtcgg ggtgagaaag ggccagctcc tgtgtggtgt 360
ggctgttaga gcaacctgtt gacctggggg cagaagtac cagggcagaa tgaaagcgta 420
cagactggga ggataagggc tagtgctgtc ttgagggacc aggaccaag ctctccctca 480
gctgtagact agtttggtga agctgggtgc agcgattaca tccatgtcat gattctcgat 540
ccagagacaa tggccccgat gggatggagc cggaagcgtt catcgagagt aactggaatg 600
agattgtgga tagcttcgat gacatgaatc tctcagaatc cctcctccgt ggtatttatg 660
cctatggttt tgagaagccc tctgccaacc agcagcggag ctattcttcc ttgtatcaag 720
ggttatgatg tgattggctc aagcccagtc tggggactgg gaaaacagct acatttgccc 780
atatccattc tgcagcagat tgaaattaga ictaaaaggc cantcaggct ttggttcttg 840
ganccacnrg tggaattggg ccagcagatt caaaangggg gtaatggcac tggggagact 900
aaatgggnrg cccctggcca tgnrnggaat tgggggggac caaacggtgc gtgncnt 958

<210> 94

<211> 989

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

145/219

<400> 94

aagcgcgaaa ttaaccctca cttaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtagcggc 60

cgctctagaa ctatggatc ccccgggctg caggatga ggggtgagca atgttactaa 120

aggaaatigg taaaatggca gctacattgg ctgggtgtcc tctgatagtg tcttgaagg 180

ggtgttttgg attcgatai actcttcacc cactattttg aaaatttgta ataacaccca 240

aaaacgtaaa agttcacgag attctcttct gctagaaaag atgcagatt ggctatgcac 300

atagagtgtg tgactagaag tggaaatgct tggaaaggaa aaagagccag ggggtgaaca 360

aggcttgggtg aatgagactg gtaatgtacc ccatggaagg gaaagggaaa gaaatagact 420

ggaagggaaa gtgcagccct gccctgtcc ctgtgcttcc actaccaggt gccc aaatgc 480

ctcagggaga caaggggctg ggaagagcag gaggcaacac aggcacaaaa ggatgatctg 540

tgagtgagtg cactcccaca agattttctt aggcctgcag aaacgcatgc atccttccca 600

gtgtctctat agcatgtgcc tgctactgat gctattcctg acagtgagct cacttggta 660

ctggaggaaa tgccagattt tgaagcattt gacgaatctg ttgccttgta icattacatt 720

tnccatant aatgnaacac taaataacta aggcacaga atgaggatg nccacaagat 780

tagatgggac cgggttgatg gtccantgg gncaaccaat ggccaatggg gtttccang 840

gtgggaggcc ttnaagnnta cagganccag gcccngtaa attaaccaag tggggaataa 900

146/219

cccgntacc ggaagaccga gccitgcnttg ggngaanggg gganccangg cnggnccntt 960

anggggggaa taaaancccg aannccngg 989

<210> 95

<211> 998

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 95

caagcgcgaa attaaccctc actaaaggga aaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60

ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggaattc ggcacgagat atgctgctgc 120

caaggaagct gcaagtcgaa gcaaggactc tgtaaccac gagatccaaa tgcctgcttc 180

atttcacagt agttaacat gttaaagaga gaatgcttta aaaatagact gttttaagc 240

ccgccgtgcg cactcatctt gatgttacta aagactgtgt tccaaacgtc tgcgtgcggt 300

aaaccggcg tgctatccta gcctatacgt catcacagga cttttaagtt cattccagat 360

catcgtatct ttaatagaat aatagtattt aatttcagta cagaaaattc tctgggctgt 420

acatttcag aaaaattctc ctcatgtac atttcagaaa aattctctc agtgccttaa 480

ccttatttag tattatttga ctctaaactt ccgtttacct ctgcccattc caacacgtta 540

cagagaaagt catctctgcc actgtttatc ctgggggtca tctgggttcc tctcaagac 600

147/219

gcagctcctg catcaagttg tgtttggnic ataaagtcct ttgcctataa tcataagggn 660
acaccagagt gaacaggga tgttgcaagg gtgtaatctc atgcaaagag tagcancggt 720
ggcattccct tcctccctgc gggaaaatan ggcangaacc antttcnic tggtagacct 780
ctggccccac ggacaggcta gggatiggcc caagcggcaa aaggccaggg natatggagg 840
ctggtaaact ccnggctggt aanccenaag ggggggnacc nccccggtg gganggtinca 900
nctggnggcc cagnggggta aagntgggnn ccnggttnaa accaaccac caggaaaggc 960
ccctggatga aagccccaaa gggnaacca agnggggg 998

<210> 96

<211> 986

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 96

aagcgcgga attaacctc acgtaaagg aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60
gccgtctag aactagtga tccccgggc tgcaggcagc ctcatcgca gccgggcctc 120
gctcctcaac ttggcaaaaa tgcctacaga gactgagaga tgcacgagt ccctgattgc 180
tgttttccag aagtacagt ggaaggatgg aaatagctgt catctctcca aaactgagtt 240
cctttccttc atgaacacgg agctggccgc cttcacgaag aaccagaagg accccggtgt 300

148/219

cctcgaccgc atgatgaaga agctggacct caacagigat gggcagctag atticcaaga 360
gtttctcaac cttaattggtg gcttagctat agcatggcca tgagtccttc ctccagacit 420
cccagaagcg tatctaacc tctccatice ctccagcca ccaagtcate gcctcctcca 480
ctccttcccc catccacacc tggcactgga gccaccaca cctaccacac atgcagccca 540
ngcctgacag ggaaaataaa acaatgtcat ttttttaa atgtaaaaaa aaaaaaaaaa 600
ctcgaggggg ggcccggtag ccaattcgcc ctatagttag tcgtattaca attcactggc 660
cgtcgtttta caangtcgtg anigggaaaa ccctgggggt acccaactta atcggccitg 720
caggaaatcc ccttttcggc agatggggta atagcgaaga ggcccggac ggttggccit 780
tccaaaagtt gggagctgga atgggggaat ggnaaattgg aaggnggnaa anaattttgt 840
taaaattcgg nggtaaaant ttgnaaaaat caggcccat ttttaaacca atnaggngng 900
gaaaatnggg gaaaaanccc cttanaaaan ncnaaangga ntaggccgn ggaananggg 960
ttnaagnggt tggttcccaa gttttg 986

<210> 97

<211> 1006

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 97

149/219

aagcgngaa attaacccctc acgtaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggiggcg 60
gccgctctag aactagtgga tccccgggc tgcaggcat acattaatat tttattccaa 120
agagaaatct ttggttagaa agacatacaa aaatggaagc taacactgtg tctgtctgtc 180
ccccacact tccagcgtat gcagtgttaa gagatatect ggcacttgta tctttgggat 240
tccatttttg ttctcgaaca ttgggaaaaa caaatggctt ggttctgtgt gattaggcca 300
aggttgggga agctagacac ctgccattcc acagataact tgctgaacgt ctacactctg 360
ttttccttgc agtaatactg ttctctgcca tctccccggc ttctggccac cctggcaata 420
gcacccttgg cctctagagc cattggtcca gagtatgcat ggcacacctg atggcacaga 480
ggtgcccaga tatgtccctc caccitccat atctaccagc gaggatgcca tcacgccata 540
aaatctggaa cccagtgaig aatacatita catgttaaaa aaacagccac ttggtaaaaa 600
tcagatctta cttaggataa aggaattctg ggctttcata gaagcttcgg tagttcaggg 660
aagaaaacgc cngggaggaa gatcattcag ncaagctgtt tgtagggtta ggaaaaggga 720
agtaaaaaac actaalcinaa gtcgtcttgg gtcactttca ttgaaacacg ttcttggcan 780
atttccctca aagggactct aactggagge ctctgggcag actctggcat cggacccica 840
aggitgggagg accigaccna agaatctgtg gtantttagg ggaggttttg gtncaaaaaa 900
caatttttta aactggcang naatttaaaa aaaanacna tnantinncg ngggncataa 960

150/219

aatgggcnaa ttccaaaang gatgggaatt nggccnaatg gttingg 1006

<210> 98

<211> 978

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 98

cgcaagcgc n gaaattaacc ctactaaag ggaacaaaag ctggagctcc accgcggtgg 60

cggccgctct agaactagtg gatcccccg gctgcaggaa ttcggcacga gattactttg 120

ggctcataat agccaacaaa ataatgtag agggccatt taaaaagaa agggaggggt 180

ggagtgggag agagggtaat ggaaacaaaa caagaatca agtcttatga ctaagggaca 240

caagaaaaag attgaatgag cagatggaaa tattaccacc taggtgtaaa cttatgtgtc 300

tatggatgta ggttcttcac acacttaaag tacgatgcat ctctaagat actaaatatg 360

tatttatagg actttagtg ggagggagga cacagcaggt gattcatctt gaataataaa 420

acaaaaatag ccctaaatat ttacctggaa agtcatgcaa tgaaaaggaa ttagttttac 480

tgaatgtaa agttttttac ttatctgtga aacagtagga atattaaaca ccaatacatg 540

atttnttct caagacatt tttttaagtc atgcctgggt gtgcatgcct gtaatcccag 600

cccttaggag gctggggcag gtttgctgtg aatttaatgt cagcttgtgc tatagaacaa 660

151/219

gttccaggct aaatgtagac nacagagtta gaaaacctat ctnaaaaaaa aaaantcaca 720
caaacataca cccaaaaaaa aaatigtitta gnatagtaca cgttcacttc acgtgtgtgg 780
ttagggcccg aacaacctcc agcngntggg tncacaggga gttggtantc ttttaagggtta 840
aggaacccca ccagccngga accnctaagg aagggcngna gcnggggtcaa cnagccaagn 900
cccntanggg gctgnccgga cccaaggnn cngggggatg naaaaaggta anaagngngn 960
ggaccaannc cncanccc 978

<210> 99

<211> 988

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 99

aagcgcgaaa tnaacctca ctaaaggga caaaagctgg agcnccaccg cgggtggcggc 60
cgctctagaa cnagtggatc ccccgggctg caggccctgt ttgtggtgac nggtcatgaa 120
gtaagtcacc aggatgaccc tgtctttcca attgccacc accgtgggt cttttinncc 180
cccnnnncc cccatatc ccttcctga cactcctgt cccaacctct ctaaccccc 240
tggggcattt tctggcttgc ctggatagtt ttagagaccn gcttgttggc tataatgtct 300
tttcatcat tcattctct tttcttttt ttaaaaaaac aaaatgaaac aacaaaacca 360

152/219

aaaagtatcc agaaaaaaaa aaaaaaaaaac nncgaggggg ggcccgggtac ccaattcgcc 420
ctatagtgag tcgtattaca attcacnggc cgtcgttita caacgtcgtg actgggaaaa 480
ccctggcggtt anccaactta atcgcccttgc agcacatccc cttttcgna gctggcgtaa 540
tagcgggaaga ggcccgccacc gatcgccctt cccaanagtt gcgcagctg naatggcgaa 600
tggcaaattg taagcgtaa tattttgta aaattcngt taaatttgt taaatcagct 660
cattttttta ccaataggng aaatgggnaa aatcccttat gaaatcaaaa gatagaccgn 720
aganagggtg gagtggttgn tcccantitg ggaaaaagaa gtccacnatt aaagaacgtg 780
ggacnccaaa gtcaaagggg ggaaaaaac ggintaatca gggngatgg gccactaagg 840
ggaaccaatc aaccnnaat caagtttttt nggggggcga agggngccng naaaangcac 900
taaaancggg gaaaccccta aaangggng cccccgnat tttaagaaga ntganggggg 960
aaaanccggg ggaaangngg gngaagaa 988

<210> 100

<211> 971

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 100

aagcgcggaa attaaccttc acgtaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60

153/219

gccgctctag aactagtgga tccaccgggc tgcaggttcc cccctgttt gggtgaaagt 120
ggttctagaa cctgcactga atagtagtaa agcaataagg cccgattcat cccacagcac 180
tgatcatctt tcaatgcccc accccaagcg aacggtaaga aggcctctct taagaagggg 240
agacagatgg ccctaactac tcagtacag aggcagttac tgtgagagac ttgtaggaat 300
ccttttcttt cctagcgaag tcaaagctct ctctgaatgt actgtgtgac aatgcatcat 360
ggcatgaacc ttcggtcagg gacgtcattg gggaagtgc ttcaaaagta ttcaaaattt 420
gacatgctgt ttgtttagtc actacagtgc cctcaaaggg cagacattgc agccttttta 480
tattgcctgc caaaatttga agtattagaa caaagtgtgc catgagagaa aaacttaaca 540
aggagttttg aaaagtaatg caaagaacaa aactacaaca ctatttttta aaagttgagt 600
atctgagtta aaattttcaa atctttattt tacaccactt aaaattatac gagaacaagg 660
tacatgcatt atgtgtcaca ttactgggca aactgttcaa atattttttt taaaccnccc 720
tgtatagaaa atatcattaa gggatgtaaa agccatgctt gcctatttgc ngtatacatg 780
taatgaaatt ggtagataaa aggggtagtg cattggaaac caaatggaac aaaaaagtag 840
ntacttttac tataccaagg gtgccnggtg caggaaaaaa atataanana antngtggg 900
naatggnagc antttaaaac cnttccaagg gggtataaaa aaaaaaaggg ggggggcccc 960

154/219

ggacccccaaa n

971

<210> 101

<211> 1006

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 101

agcgcgaaat naaccctcac gttaaaggga caaaagctgg agctccaccg ccgtggcggn 60

cgctctagaa cnagtggatc ccccgggctg caggcttaaa tagaattcaa ttctaaaaatc 120

ctaaaaccca tctccgggtt accaaagaat gatcttacag gtcctgtcag tgttctctgt 180

gtgatggttc tgagaattaa aacaactata gtcctctgtg attcatggct tctctccaatg 240

ctatcaagac tatctgaaga gggttatagaa atccttggcc ggtctgcacc tcacctgccc 300

tccaggacac atgtgatgtg tgcatccaga tgaccaaaaa cagaccctta gggcttcgat 360

aagggtttac aatagtttga agtgctttcg ctacacagta gggaaccttt acaaaccaag 420

ctagcaattt aacnccttgc tcttcatggg gacacatctt gggcttgaag tcagcagtag 480

agtcaggaga aagttcccaa agatgtttga gcaattcaat ttcattccng ctcccatiga 540

tttagacttc aggttttcgag gggagcctac taaagtatac attaaggata atttgcttag 600

ggcataatcna atngtgggtt tccgagtaga tgaacgcaga gtctctcaga agtccacacc 660

155/219

catcacagca acaagtaaga agcicataac agaggaacat ctactating ctttgintia 720

aaaaaccccc cagatggcna aancaicctt tctgtttcca nncngnincg cctncaagcn 780

ctggngtggt gnggtgnntg tggigngn gnagatgagng agtgtingtg tggtnngng 840

nngngngint gnnggggggg gannggnaag caggtccagg gnagaatncc acaaaggggg 900

caagaggggg anggggtcca gnanaanccc cggaaanggg ggagannacn cctggggagg 960

ggnnaaccaa caanttccn aangnnntt nnaccagna aanana 1006

<210> 102

<211> 968

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 102

agcgcgaaa ttaaccctca cgtaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60

ccgctctaga acnagtggat cccccgggct gcaggaattc ggcacgaggt cccctggagc 120

tgagtccttc agagtggggt cticagiagg gtctcctaca gtcagagagg ggcctgagga 180

tggaccagac agcacaataa gtgaggctgc cactttacct tggggaactg acccccatcc 240

cagcgcccca ctccggatc cccccgggctg gcgagatatt gggccagagc tcttagagtc 300

agaagcacct attaagtcgg aggaaccact caaagaggat gccaacctgc tccctgagaa 360

156/219

gacagttagg gnccttcgtg ncccatlgac ctacagtggc atcgagcggg aagccincag 420
gaggagcgca ttcaagcatt gtaggggccc gaccaggcga gctcaggaat ttcttgccag 480
cccgaatcag ccacctgag cccccagagc gcaatggggc tgaggcagtt gtgagacccc 540
ctggccgggtc ctgcgggggc tgtggaagct gtggaggccg tgagcactga gagctgtagc 600
ctcgggtgggtg gctgccctca tctttctccc ctgcctgctg tatggagcat acgccttcct 660
gcctttcgat gntccaaggc tgcccacat gagctcccgc ttggtctata cctccgctg 720
tggggtcttt gcnaacttc ccatcgtgct ggggctcctc gtgtangggc tgaagctatt 780
gtgctttttn gccctttggc cctttggaag agccgagaag ggaagtagaa gattccacgg 840
gcagtangtg ggcccaagtt ctgtgcaggt tnttinaannc tctantttct ttaaacctgg 900
gctgtggctt ttcaacctaa nntggnccca aggaanaang gtinaaaggnt ggancceccc 960
ttggnnaa 968

<210> 103

<211> 1033

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 103

aagcgcgaaa ttaacctca cttaaaggaa caaaagctgg agctccaccg cggtaggcggc 60

157/219

cgctctagaa cnagtggatc ccccgggctg cagggctggg ctigccttct gggtaatac 120
atgacagagg cattagactt ttttagctgc cctaataagt atatgatgaa taaataaatg 180
ccaataccca taacaatttt tctagtgggg acaaaggta tttgattaat ctaggttttc 240
ataccgaccc gattattaaa tgcacttaaa aaaaaacngc atttaaagca ttggccttag 300
cagaattaac tgacttagtt ccttacnggt gagtgaattc agttccctac caactaatgc 360
gcagaatcta agaateccat cctgcacaca ttggttggga gccctgagtg gagtatcagc 420
agcaccaact ggataagagg cacaagagaa gtggggaaca tctggagtc tgttggacgt 480
ggacagtgtt tcttggatat gtatgccaca gtgccttggg ggccagcttg gaggcctacc 540
tactcagcct ttgtccccac ncctccngtg ttagcttnca tcttgcatai tenatitit 600
ncnactitgt taaccnactt tatgncntta nctcaataaa aangcntacc aagggnaaaa 660
aaaaanaaan aaaaaaaaaag gggcccggna cccaatnncg ccctanagtg gaggcngnaa 720
tnancaantc cacggggngc gtcgttttaa ccaacggtcg tnaaggnggg aaaancnctg 780
gncgntanc caaanntaaa nncggccttg gcaagcanca aaaccncct atnacggaca 840
agaangggcg ngtaataaga cgnaaaaggg ncccgacaac cgnattaagc cccgincncc 900
aaaaaanttt ggggagccct ggaaannngg cgaaangga caaatnnnta ananggntaa 960
anaaanttgg ganaaaaagt cgcggtgnaa aaanatnnng gaaanaactg gcaccgnttt 1020

158/219

ganaccaaaa agg

1033

<210> 104

<211> 1011

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 104

agcgcgaaaa ttaaccctca cttaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtaggcggc 60

cgctctagaa ctatgggac ccccgggctg caggtcagaa gcaaagccac tgtggcagag 120

aggaagcccc tctgcccctc cggccccctg cccctccatc cctccgctgg tgtttctggg 180

gattattcac tctccttttc ccttcacaag ggccttctct gcaggagcga tagagaatgc 240

atgtctgccc cattgggcct tttaggtctgg gatnctcca accacatgac ctatacccca 300

agcccgcctc tccatgcgc tggccccctg gatgactaa gatttgctct cgtttgttcc 360

tggtctggat ggcaaaacaa ggagatggtt atttaaagag aattcctatt tatttgaca 420

caaaaagtc agttaatata ttaatgtgaa ataaacctg tttagcacct tgaaaaaaaa 480

aaaaaaaaa cncgaggggg ggccccgtac ccaattcgcc ctatagttag tcgtattaca 540

attcactggc cgtcgtttta caacgtcgtg actgggaaaa ccttggcgtt acccaactta 600

atgccttga agcanatccc ccttcgcca gctggcgtaa atagcgaana ggccccgnac 660

159/219

cgattcgnaa ttcccaanag ttgcgcanc t ggaatggcga atgggcaa at tggt aagcgg 720
t naaanaatt t gtt aaaaaa ttcgggggtt aaattttttg gtt aatcca gnnccatttt 780
tttaaaccaa tangggcgga aaatcgggna aaaatcccct taataaaatc aaaaaggaat 840
tangnnccgg agnatnagg ggttgagtgg tngttccan tttgggaaca angagnccca 900
cctaattaaa ngnangnggg gnnnnccaaa agggcaaaan ggggggaaaa accgggctna 960
t naagggggg natgggccca ataangngg aanccaatna ancccnnaat g 1011

<210> 105

<211> 1013

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 105

ctcaagcgnt gaaatnaacc ctactaaag ggaacaaaag ctggagctcc accgcggtgg 60
cgcccgctct agaacnagtg gatcccccg gctgcaggcg gcagcgagga aaagcctggc 120
tgggccaggg tticattgtg ngggggaggg ggcaagcctt gcgacagct ctgtaataag 180
cgtagcacgg gggaattcaa gaggcctga gaagcctgga gtcccaggac gtcttacttc 240
ttttcctaca catgtctctg agccatgttt ttgcttaaat tctctctcaa gaaagacaca 300
cactaaaagt gaaatctaac agccgcaaaa ggttactttt ttttgtttag atggttttgt 360

160/219

ctgatttcat tttnccctgg aaagtcttga aataagaatc aaagtattta aagtcctcgcg 420
acacgacagt gttnacagga ctggctgtaa ccgtgttatg taatcagagc gctccaacaa 480
gggaaatctg gtaggattcc attggaacgg gtattggaga gctgaaccag gcaggtgggtg 540
gtaaggggtt gccctaagag tctgttacac aatgcggtgt catgggaatt tctcagagcc 600
atgggaactc tcaggaaggc aaagagatat tctaacctgg agagcacagg gtccccaggt 660
ccgggtctaa ggctggactt gtgatgcaca ggtggntatt tccagaacct tagggaatta 720
acagtittca cctggcaanc agcntgcctg nacnaaatct atnggattnn cnaagcngaa 780
ttaatcccag tccaaggga gcaagcccaa tcnngnnnnc ttnccggggg cagnaancia 840
atggggcgga ngaaaagaag gnngaaaanc acaaaggccc caaaaaggaa tgggncttgg 900
ggtaaaggnn ggaaccacagg ccaangaatc gnncantgaa aaatggggaa aaaangggng 960
gngntggtga acgaggatat ggaaaincnn acatgaaagt tttaaaganca atc 1013

<210> 106

<211> 989

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 106

aagcgcggaa attaaccttc acgtaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60

161/219

gccgctctag aactagtgga tccccgggc tgcaggccac tgcaaggcgt cagacagaac 120
tagtatcttc acacttgaca aggagncaca ctgtcactaa cagtgttgtg tggccgccct 180
gtgggtcagt gctccggcac acagggtccc ctggaaagcg atggagatga aggagctgga 240
gaacatctct gtcccgggtga gcggctgggc tgtcacctct gctgagcacg gtgctttgct 300
cacacggctt accgagatgt tacattcaca cccagtgaac ctgggcttta tgagtatttt 360
tatgaatgct gattgcgatt atgnattttt gttttgacct ttatgttgtg gtccctgtga 420
gttgtgggcg cctgcaagga tcagaaaatg gtatacgatt cactggatag agtccgggt 480
ggtcgagggc ctccctggaag tgggaaccaa actcaggcag aagaaccaac ctcaagagcg 540
ctcagcctcc gagccaactc cccagccccc ttggttgtta tgtttccaac acacagctca 600
atggattaga atccagggga aaataggaaa caatctctgg actctggggg actgaaaagt 660
ctattaagga tcttgtgatt cttttggacc atcagaaatc gtctttccta aaatagacat 720
ggatgttctg gttaaaataa aaacaacata tcagaaaaaa aaaaaaannn nnnngngana 780
aaaaaaancg cnnggggggg ccccgnacc caaatcgcc cttaaagngga ancgnaattaa 840
caattcantg ggccgccggt tinanaacgn cgtgacctgg ggaaaaancc ctgggggggia 900
cccccaactt taaancgcn tggaagnaaa attccccct tttcggccaa gnntgggggn 960

162/219

aaaaggcgaa aaaggccccg caccggnic

989

<210> 107

<211> 1020

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 107

ctcaaggcga aataaacctt cacnaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60

gacgtcttag aacnagtggg tccccggggc tgcaggggct gcggagaagg cagcgccgga 120

cccagcgggtg cggtaaggca accacggccg caggggacct cgggccggag anccccggcg 180

gcggccgccc ctgcgcccgg ggccgttagt cagcagaacg cgaacgcgcg tgaaggggcc 240

acacgaancg cggccgggca ccgcagctct cattcgcgtt ctgcctggc cgggccgcgc 300

gcggagtcgg cgggcggcgc cccgcggagg aacagcgcgt tggacggccg cggccccag 360

gctgcagaag atgaataatc ttcatcttag tggagctatg ttgcctcttc tgctgtgcca 420

ccttgaccca aggaaaatcg ttcaaaacta agcattctng ncacctgac caacttacac 480

actgatgtgt gatgagagtg gaagccgctg nacctttana cctgtcagaa ngancggant 540

ggnagtantn gtncaganag aaagatggta ttggagtgtt ntcatgnacg agaaancagt 600

aanagnnaac agaattggct tgtangtttg ttgcggtgnt naccaaagtn tnataatatg 660

163/219

accttnacng ntcttcagag aggaatgaen gntgaatctn gggttcagaa tgannggagt 720
tttttaacat anggnactgg ggnggtcccg ggaatgaaat ntgtgaagta aatainnncng 780
cnatgannga atnnactnnn ggnatgagg gagggctaag ttcgtgngta aagnncanac 840
naagaganag tnaanntggn nagtgncaag ancaagtaga aancngnacn gngngggana 900
gcgtnnanng tggacanaag nantacaggg gaannnnnga cnatngnaaa anggcgaaat 960
ngaanatatg aggacaatga agnanggang ggggancggn aacangggng ntgngtinnnc 1020

<210> 108

<211> 917

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 108

gcaagctcga aattaaccct cactaaaggg aaaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60
ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggctcaa actcagttct agaaggacct 120
tgacaaacag acatacttac ctcttggtta gtggaactct gggacaatgt ccttttgtat 180
ggtgttttca ggagtcctta ggtaatgttg agaaaactca gtgtaggcca aaccaaact 240
gatggttctg tttttgtaat tgtctctttc atgtcctatt atactctgta ttaaaaaaca 300
gggttaaaag gccatagtc cctttcctaaa atgtaatgcg caccttgtat ctgtgagggtg 360

164/219

gtctgttggt gtttttatcc gaatagggtg tcagggtgaat atgacccctt cccgttaccc 420
agagggtata ttctccaggt ggtcagagtg caggttattt cttacacaga gaacctacct 480
tcctccata tgattcttga cctctgccct catctcccat ttaataattt aaacaaatct 540
gagggcaggt gttgtggcac agtggcatac acctgcaaat ctgcacatgg gaagttaaag 600
caggaggatc aggaatcggg gatagccttg gctacagaga gagttcaaatt ccagtctggt 660
atacatggag tcccagcctc aaaaccaaac acaggggcgt ctggaaggaa gaactctccg 720
gctggtgctg ttcagggggc actggcagag tgtctgtgcc cagtcaaagg tggtaaaccc 780
agtgaacaga taancctggaa atggacagtg ttggataggg aaataagggt ctggtgccac 840
catgggagtc aagtcanttg accaatcctt ggacccaaag cgaaggcttg antaanacca 900
ccggtggagg cctacgg 917

<210> 109

<211> 895

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 109

gcaagcgagg aaattaaccc tactaaagg gaacaaaagc tggagctcca ccgcggtagc 60
ggccgctcta gaactagtgg atccccggg ctgcaggaag gtgggccact ctctgtccac 120

165/219

attgccttta ttttcttggg ttgaacgcat aacgtggccc ctacattct ccaggacctg 180
accagctgig ggccactgac tgcitgaaa cccggactgt gctaagtta tagcgtgtag 240
cccttgggga cccacctggc ccatctggac acatctcaag gctccagcga ggaaggatgt 300
aaaaataatt ccttgcctgc atccagattg ctcatggata cggggctgaa ggcagaagca 360
gctgtctggg tacgacatgg agggggagct ggtctctgt gcccggtata gctcagctgt 420
ggactttggt ctctggagtg gatgtccctg tcatgttagc aaacattcac tgcctttct 480
cagtgccttc gctctctcgc ctccacgta ctcccgcgt actcttgccg tttctcgccc 540
gcgtttctga gcacaccagg tcttgccctg agtcttggtg tcgcggatga ctgactgaag 600
gggcctttga gagctgatgg gtcttgccat ggactcctcc cggtgattag caatgactgg 660
ggccttacc acccacciac cctcgtaatg aagtctctg gagtggctgg acaggtttga 720
gggaagggtg aggtggttta aactggtttg gggagtgcta gggctgggga cccagaagca 780
agcccagggt gtccccaacc ctctccgca nggtcttgct aaatgttctg atctctgtaa 840
aaccctctcc ctctttcaga aggancttgg ggtggggccc ctctgaaatt ccna 895

<210> 110

<211> 901

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

166/219

<400> 110

aagcgcgaaa ttaaccctca cttaaaggaa caaaagctgg agctccaccg cggtaggcggc 60

cgctctagaa ctatgggac ccccgggctg caggtttata tttaaaaca atgtgccctt 120

aattcatggg tacacctgc agttgtaaat tgtttttct ctgtacaca tctaatgat 180

ggtagcatct gtatttctca catataaaga aaatgtacta aaattcgct aatccattt 240

ctagagcata atagaggtaa ctacaggtc ctcttttct ctgagctctt taccctgggc 300

gtggctggct cctgcctcgt ctgctcttg catctctga tatagagttt cacaggcctg 360

gaatgtggtc ctgctcacta acaggcaggt gttcactgtg tacctgcacc gcctgtctgc 420

agagtattac gtaatcggcg tctgaccagg agctggattt ggtcactca gtctggttca 480

gggacactgg gaaacatggc accagttctt cagcccatcc agatataccc cgaacaagt 540

attctttttg ttctacctac agccagcaag cttttctga aacggccagg tagtgtttta 600

aggtctgnca agtcatgtag ctctctaat actctttct gctgttacag ctataaataa 660

tatgcaaatg tacgagtgga gctgtgatgc aataaacctt tactaaaaga cagacggacg 720

gaggcctgca ttgtgccctt acctcacagc tgctggcccc aggccctaatt tcaatttaag 780

acctctaacc ttttaancgc aittttccc ctttttaatt gcataattca cttnaaagca 840

gaaatgtgtg tggtacacnc ggngggggaa tncgggggn cnggaancac ctaaaaggct 900

167/219

g

901

<210> 111

<211> 924

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 111

tnncgcaagc gcggaaatta accctcacia aagggaacaa aagctggagc tccaccgcgg 60

tggcggccgc tctagaacta gttgatcccc cgggctgcag gtttggcatt aggccaaagg 120

ccatagcaac agaaggtttag gatatagaca ctcaaactat gatctttaaa gtgggttgta 180

tcacttaaag gacttggtaa tatccataaa ctgggaatgg tggctgtgtg atacttcac 240

aagtaacaga tgtgggtgta tcctacttgg ttactctcct gggatgttaa ctccccttc 300

taggtgacag atttcttcac ataataggaa taataatgta tgtgagaact tactctgtgc 360

caggcagtgt gtaggcacat acacagacca ctgcaccccc ttagcagccc tgtgagaaca 420

catcggctctg cataaagcat tgnaaacagg aatatgcac tcgtgatgag gaatgatcga 480

ttataacctat caattaagat aaatcaataa atcatatacc atagtattata tgcctttgaa 540

aagctacata taatcactaa gggttttttc ttaataagtt aaaatgttag ttacagcctg 600

ccagtgtcta acatttggag gctgcagcct tcagaacact tggagtaact actgaatggg 660

168/219

ccattgagct ttcttttgct gcctatagga aaacagtacc ttantaagtt ttacccttcc 720

tacagtcact tgttaaattgg cagttactga caaaacttta acaagtactt gctgctgcct 780

gtcnangctc tccctgccna aaggggccigt nccatgcacn aaatccgnca ttaaacctag 840

ggtaggcctc aggaggtaggg gtincgging gacctnaaac tngcccatc caaggaaatg 900

ggggaacnac nattaccggt gntc 924

<210> 112

<211> 893

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 112

aagcgcgaaa ttaacctca ctaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtaggcgc 60

cgctctagaa ctagtggatc ccccgggctg caggttccct cctctccctt actatggaat 120

tttcttggtt tttaatcaca aaaacaaaca ggttctgttt ctctccctcag ggtcgggttt 180

cagtttttgg gttaggtttg ggttttgggt tgggttttgg gttaggggtt ggtttgggtt 240

ttaggttgggt tgtaagttt gggtttgggt tggttttttt ttttcccttt atgctctaga 300

gaacaaggat agaggtagga gctgagatct ttggaaccaa agcagagcat gctgagtgca 360

tgaatctaggg cactggccac caaaggcagg gccctcacat atgncccata agccagagcc 420

169/219

cccatgctgt ggccacatca cctgtcttc tccgtactgc atcctcttct acgtgcttta 480
ttagctagtc caaagggggc agcagtagta atgagagctg tgtgagcaca tggaactcca 540
tgcactgaaa cccacatacc actcatitag aaaaagacct cgtaggcact gcacaaccag 600
ccagctctgc tgcctgtgtc tgcccggctc cctcctcctt agattgcttg cctgctaaac 660
ccatggctag aactcactgt ctggcagaag gataccaag cctgttcttg gattttgtct 720
gtcttcagcc agatgcttcc tgcccttctt tccttctctc tcatattgct gtttctenct 780
gggtgtgaag ttctgngcca ttcccatagc actgatctta acaccagat aaagcnaagg 840
gcttgggcca aagatcanc ttcnnncct tacagangn gaaaccccaa cct 893

<210> 113

<211> 1012

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 113

ngcgnaagcg nngaaattaa cctcactaa aggaacaaa agctggagct ccaccgcgt 60
ggcgccgct ctagaactag tggatcccc gggctgcagg aatcggcac gaggccagtt 120
ccagattcag tcttctctgt tagaaagaat ttcttacttg gtcaactaga catacctgcc 180
agccatatgc tgacagcgtt taaattcagg gcttacticca tctccttata agacctagca 240

170/219

tatgtgggct tcgaatattc aattacttgt tgttgccagt ttactaagc ttagtcaaat 300
aactcactct ttttcaatag gatattatit cattcaaggg ttctttgacc aaatgatctta 360
aagggtgggtg gtgttgggga tggagctgtt aggagcactg gacatctctt ccagagggtcc 420
tgagttcaat tcccagcaac acatgggtggc tcctctgtaa tgggatctga tgacctcttc 480
tggatctgag acagctacag tgtacttata tacataaaan aaatctttta aaganaaaaa 540
gggagtatta tatttgcttg ctaataagaa aaatcttatt ttgttgttgt ttctaaaaac 600
gtaagatcag tttcttagtt tggcctacat tttaaaaacc gtagtgattc cgagtgtggg 660
tggaatctcc catggaagcg tactgttgag aagaggctga gttttgggtg aggcacatcc 720
cagccagcac cgcatggacc anttggtcac gttcatgtg cctgccccac cntccanana 780
tgggnltcen ggtngccntg gnntccgggt cngggaaant ngaaancccc agacccccctg 840
gggtttggcg agaaaaaana ntggcantaa ctggagccgg nggaancccc caagnccctt 900
gggnnagaac ctncctngga ggnagagang gccaatitcg gaanagcna acnaattaca 960
attggaaggt nntaggnncc ngggggngna cnaagaangn ngaaaagggg gc 1012

<210> 114

<211> 993

<212> DNA

171/219

<213> Rattus norvegicus

<400> 114

cgtaaancgn ngaaattaac cctcacgtaa aggaacaaa agctggagct ccaccgcggt 60
ggcggccgct ctagaactag tggatccccc gggctgcagg ttagtgaatt cagggctagc 120
cttggctata tgagaccatc tctcatcaa acattaaaga ttttcatcc ttagtatgt 180
gactgtcctg ttttctctag actacittaa atatctctac tctgatgaaa ttaaggaat 240
tgtaagtffc aagttccaaa ttacagcatt gactctagaa atgtagccaa actccatatt 300
ttcatagfcc ctgtttttat ttctacata aacngataaa ttttccctgt acttaagggc 360
tttggcagta attctgtcta tatttaatct atnggcaccc tctaaattgt gttttcttfc 420
aacacagtca tccnggccaa atccittaaa atgtttttgc ttcatgaaag aggttgaaga 480
gtccttattt aaaagggcag ttgaatgtca ccagcaacag atgcaaagcc taggttcaag 540
ggttgtaaag aggccagcac tgtgigggtc agatttcaag gcacctgtt gatcacnggg 600
gagagactgg ctgtcacaca gtcactggga cagatggact tgggactcat accaaaggct 660
tctaaatcag aaataaatag tataagggca tctgintccc cgaaccttcc taggtccatg 720
aaaggcttcc agctcacigt tactgttttc canttcanen gacgcttaga tgagtagaga 780
tagaagttag ncatitggga gctaagtaga gccttagtctn gggctcncat gaaggggcaa 840

172/219

aaggccagcc ccaanggaat taanctagga ggctcaacct nanngtccc cattingggac 900

naantccata agggaattgg gcacccaggg cttitccntt ngaaaagcnn ccagccttgg 960

ntgggggggg anaagaaggt tgaatnccn inc 993

<210> 115

<211> 997

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 115

aagcgngaa attaacctc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60

ccgctctaga acnagtggat cccccgggct gcaggctcga gagtcatcat ggatcttacc 120

tttgtaacac acttgtaaac ctacagtac agagcatgtg tgtcatcaa acagcaggac 180

ttccaaaaac atcatcatct acattgtcaa gtctccatc atggagatai gaggccctga 240

aaagtataga tcaggggacc tgtggagact tgaggttcca gattgaggag agcactggct 300

gcctggcttc atgctgtct catgggacc taggaaggac gatggaacaa cactgttcta 360

ctttaggggt atgncataag ctttctcaa acactaccac acactggaca tccccctact 420

ctggcagtcg ttacactac tggcccaaat tctcagctg tatcaagagg ctgacncca 480

aggcctttat gacagagggg aagactccag gtgaaggact cagaaggagc tgctcagtc 540

173/219

tggggactca tgtgtagcct caaatctaata tgtgggtgac ctgctgctct ctggggtcag 600
tcacagagca gctgcttcca gacaagcagg aagaaggaac agactctgtg cactttagca 660
caaaggactg gagccaagtg acagagacat gggacagtcc caagtgtttc cccagataac 720
ccancctctt cctttaccit tcagaaacan ttttaencig caaaggaggt cttggttaat 780
gtctgaaact ggiggcanag agggattagn ntgtttaatt tccaggagaa gcataagttt 840
ggtnaancac cttttangct ggaaatggaa atttagggga ggttaattan naacntcaac 900
aaaactccca anccnttttt anancctttt nggttttnan agagnnnnca ccataaaccc 960
cgggnnggac cngganaann ggaaatggaa acnagg 997

<210> 116

<211> 979

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 116

aagcgcgaaa ttaaccctca cttaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggiggcggc 60
cgctctagaa ctagtggatc ccccgggctg caggcaggag tactcctcag cctagcttgg 120
gtgcccctga tctgctttga tccttccac caagcaaagtg aattgtttag caaatgaatt 180
ttgcctggga gctgcctccc ttccccctag gattgggttg ttcaattgagt ctgctaacat 240

174/219

tcttcaaaaa attactataa ccaagaaaga ggaggctacc tgtctttgag gatgccaacc 300
atggccccc a tcagcacagg tcccatggca tggtagcaa tagcagagg gtttaacaag 360
ggaggaagac acagggctcg ccttcagga tctttctgg ctggggaggt gttagtcaag 420
ggagaagtgg tactcttga gtgacacca tggcaccag gattatggt accagcctgt 480
tagggcccca gcaggcacc tttgtcaac cctccaagga gttgcctagg ttccagaatt 540
ctgctgtggt tggcaggctt aatctggtct cttcacttc catattagaa gigtcttttc 600
ctcattgcgg aactgtgcct cctcggggga cagatgcctt tagatgcaac tgcctcaagg 660
accccaaagg ccattccac aatataagca atgacttctt tttctttttt agtcatgcta 720
agtagttaga caatcttga acttgggac tctggttctg gtgtaagagc caattatgtt 780
ttaactactc attgggaaga gctgagggtt tccagtgggt tgcctaaag agaaggctga 840
aggcttgcca atggtgttcc ataaagagaa cccagttgg naaaattggg ggatgccaag 900
ccggtttttg gnaaaggctt caaaaccaag ggggantngn caattgggaa anaccagcc 960
accaggnina aatgggggn 979

<210> 117

<211> 979

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

175/219

<400> 117

aagcgcgaaa ttaaccctca ctaaaggga caaaagctgg agtccaccg cggtagcggc 60
cgctctagaa ctagtggtac ccccggtctg cagggtccag gccggggacg tgatcccat 120
cgacaaggcc actggcaaga tttccaagct gggccgctct ttacacgtg cccgagacta 180
tgatgccatg ggctcccaga ccaagttgt gcagtccca gacggagagc tgcaaaaacg 240
caaggaggtg gtgcacaccg gtgcccacca tgagattgac gtcataact cccgcactca 300
gggtttcttg gctctcttct caggagacac aggggagatc aagtcagaag tccgagaaca 360
gatcaatgcc aaggtggcag agtggaggga ggagggcaa gcggagatca tccctggggt 420
gctgttcatc gatgaggtcc acatgctgga cattgagagt ttctctttcc taaaccgggc 480
cctggagagt gacatggcgc ctgttcttat catggccacc aaccgaggca tcaccgggat 540
ccgaggcacc agctacaaa gtccccacgg catccccatt gacctgctag accggctgct 600
cattgtgttc aacatgccc tacagtgaga aggacaccaa acagatccta cgtaiccgct 660
gtgaggagga agatgtggag atgagtgaga cgctacaca gtgctgacct ggcatgggc 720
tcgagggggg gccggtacct aatcgnct atagtgagtc gtattacaat ttcaatggcc 780
gtcgttttac aaagtcgiga ctgggaaan cctggcggtt acccaaactt aatgccttg 840
nagcaanac ccccttttcg gcaagctggg gtaataagc gaagaangcc cggaaccgga 900

176/219

tinggcenntt cccaaaagnt tgcggaacct tgaaaatggg cgaaattggc aaaatttgta 960

aggcggtaaa tanttting 979

<210> 118

<211> 989

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 118

aagcgcgaaa ttaaccctca cttaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtaggcggc 60

cgctctagaa ctagtggatc ccccgggctg caggctggcc acttgctcat aggccagggc 120

tctcaaatga gcaccttttt aagggtcctt caccactct gtgctctcca cagaggcttc 180

cacgttgcta cataatggac acactccgat atagccaatg ggcaggaaat ccggggcact 240

tgtgcagggc cggggatggg actggggata agggaaagat tagaggacaa gggtaaagatt 300

tttatTTTTT ggtaggttgg gtaagacaac gtatttcagt aataaaatac agaattggaaa 360

aaaaaaaaa aaactcgag gggggggccg gtaccaatt cgccctatag tgagtcgiat 420

tacaattcac tggccgtcgt tttaaacgt cgtgactggg aaaaccctgg cgttacccaa 480

cttaatcgcc ttgcagcaca tcccccttc gccagctggc gttaaatacg aagaggcccg 540

caccgatcgc ccttcccaac agttgcgan ctgaatggcg aatggcaaat tgaagcgtt 600

177/219

aatattttgt taaaattcgc gttaaatttt tgttaaata gtcattttt aaccaatagg 660
ccgaaatcgg caaaatccct tataaatcaa aagaatagga ccgagatagg gttagagtgt 720
gttccagttt gggaacaaga gtccactatt aaagaacgtg ggactccaac gtccaaaggg 780
gcgaaaaacc gtctatcang ggggatgggc ccctangtga aaccaatcac cccaatcaag 840
nttttttggg ggcccaaggt gnccgnaaaa ggacctaat cgggaacccc taaaagggga 900
gcccccggn ttttaagaggc ttgancgggg gaaaaccgg ggnaangtgg gcganaaaag 960
ggaaggggan aaaaaccgaa aggggccgg 989

<210> 119

<211> 978

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 119

aagcgcngaa attaacccct actaaaggga aaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60
ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggcagca taactccttg aggacagaga 120
gttttgttac tgcttcttcc ataggacttg ggccagtgt gagcgtgtga aaagcactct 180
ttgactgggc agacaggagg gccacatgg gccatgcacc attggtggca ttgggaccaa 240
gcgtgctgcg gccagaactt agtctgaggg tatattcctc tccgccacag gaacagctct 300

178/219

cacittctta cggttattct tagtttgta cacatgactc ctcgtggag ctctctgaca 360
ggctgaggtc ctatgaagta gggtggaaga gaatagctac agaattgggc ctacagcttc 420
ctaicgcttg agcatccagt cagggcaatt ccggcaggct gcatcatcct tgattgttac 480
aaacactaat gaagaaaggc agcattcctg tgattttaaa ggaaacacag aattttagct 540
tcaagtatgg gcattccttt gtgaaacttc tcaggaaaat gttgtttcta agtaagttaa 600
tctgagaata tagggctgtt acagaatggg atgctgttct gcagaaagtc ttttcattcc 660
ataagaagga atagtatat tatacaaaga ccgggaaggg ttccttgta aagtatcttt 720
tatnctcctg ttgtaatgta gtcttagagg ttactgcct ctgtctccta acctagggtc 780
ctggaagctt ctgggcctct gtacagtcta atctagggcc tagaaagggt tccaggctcg 840
gagaattcaa tggcngaaat aagctcaacc ctcccaagt cntttcnga aangaaacnc 900
cttgccccag gactccncc tccaagggt ggacnngan cnaaancng gggntcccc 960
cncnncnc cnggaaag 978

<210> 120

<211> 992

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

179/219

<400> 120

aagcgcgaaa ttaaccctca ctaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtaggcgc 60

cgctctagaa cnagtggatc ccccgggctg caggaatcat tgacatagac cacaatgtag 120

cttcacgatg tgagaatncc ttctctacca taaacacaca tgactaggga ttgaccttct 180

gaagtctggg accttgggaa aaggaatccc acactgtggt ttcatitttg cattactat 240

acacagtaag taaactaaga acatgttgta accatgtatt tactctgcca agtgcctata 300

tgccaataaa acattcatcg ctgaagggt gtccagatac ctttatitag aatggggctg 360

gttcatctt taagcaaatg tcacactgga gctgcaggaa cagcccttag aaatgaaagg 420

ggcaagtcac tacttggctg gactctggga aatttcacgn ccincttggt gtgggggaga 480

aatccactgg ggcacgactt gatgtccaat gaaattctgc ttgataaca cacatggctt 540

atttttcaag ggaatggatc aattccacaa accagcaatg gggcaattac tcttgatata 600

attgaacggc tgttcaaact taatanatit tcagcgggcg agactggagt aaaacgttcc 660

ntccancigt aattataaat gagacagtgt ttacttacta aaaaaaagaa aaaaaaaac 720

tcgagggggg gcccggtacc caattcgccc taaagtgagt cgaaattaca attcanggn 780

cggncgttiti aaaangtcgn gacngggnaa anccnggcg ttanccaacc ttaatcggcc 840

ntgngggnan aatnccccct ttncgccanc ngggngnaaa tancgaaaga ggccngnnac 900

180/219

cgaatnggnc cataccgana nggtggnnca ncnatggaat ggngaaaggg gaaaattigga 960

aanggggttaa aaaattitgn nnaaaaaanc gg 992

<210> 121

<211> 983

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 121

aagcgcgaaa ttaaccctca cgtaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60

ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggatgaa gatgtcattt aattatttgc 120

caaaactagg gttttaatga agtggcttcc ccagtcacct ttttatagtt attttctggt 180

gtagaccctt gaggtggctc agggatataa ggtgcctctc ccaagcctga caacctacgc 240

tigatccctg gggttcacac tgtagaagga gaggactacc ctggtacatt gtctcagac 300

ttctgtatgt gtgcgcgctc gcgcttcaca cacacacaca cacacacaca cacgcgcgcg 360

cgnnncaaag ngcaaattaa aaggtatata aaagttaaatt ttctgtttta taaaacggtg 420

tttaataaga aaataattat aaaatttaag tacaaaatta tctattaaaa attcctattc 480

ctgccagica atggtggagt ttgcctttta tccaagctct ctggaagcaa ggcaggttct 540

ctgaattigga ggccaacctg gcctgtggag tgagttccaa gacagctggg gcgacacaga 600

181/219

gaaactgict caaaaacaaa accaaatcaa aacaaaaacn gctattccag ttgatactga 660
taaccaatgia aaagagagca gaaataatcat caatacaata tcgtcccttt ggganccct 720
gggggggaag cagattgtat ttgtgtcatt ggtatctgcc ctgtttcttt ataaataana 780
ctctagaatt ctgtcccttg gggttgcaga gttgttgaga aggaaactgg tcgccgtgtt 840
ttttgggaag gtggaagtgg tacctaagga ttaattaatg aagganaacg ggngnancctc 900
cnaaggnaaa gnggcggtgg aagggaanc gcctagnngg nnttccccgg ctttntnnnn 960
nnnggggntn ggnannggcc cnc 983

<210> 122

<211> 973

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 122

ncaagcncng aaattaaccc tcactaaagg gaacaaaagc tggagctcca ccgcggtggc 60
ggccgctcta gaactagtgg atccccggg ctgcaggcgc agtggcggcc gactccttcc 120
ggggcctaaa gcagctggat atgttggatc tgtccaataa ctctctgtcc agcactcccc 180
cgggtctgtg ggcgttcctg gggagaccga cccgcgatat gcaggatggt ttcgaigtct 240
cccacaaccc ctgggtctgt gacaaggacc tcgtggacct gtgccgctgg ctggccgcca 300

182/219

accgacataa gatgttctcg cagaacgaca cactctgtgc ggggcccag gccgtgaggg 360
gacagcgact gctggacgtg gcagagcigg ggaccttgtg aggatggcaa ctgggggtgcg 420
agccaagggg accccgcttg ccactgaagc aatttgggtcc catgtcagaa tgcagattcc 480
cagcatctgc cattccccat tccctcagcc aggaatgcta ttccctgact ctccctcagg 540
ctcctctcca ttgccccaa ctcttcacc tctcactgtt cctgtgctgg cccccaggt 600
accatgtgtt tatctagctt tgcctcatat gtttcagggt caccaaagca gtttaataaaa 660
cagctcccgg ctggctgagc cgctcaaaaa aaaaaaaaaa naaaaaaaaa nnannnnnn 720
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnana aaaaaaactc nngggggggc ccggnaccca 780
attcgcccta aaggggggng tattaaaatt nannggnngn ngtttttaaaa ggnnggggnan 840
tggggaaaaa ccnngggggg tacccaantt taannggctt tgnngnaaan tccccctttt 900
tggcaannnn ggggnaanaa nggaaaangg cccgnnanng gntnggcctt ttccaaaaan 960
nttggggggn ttg 973

<210> 123

<211> 976

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 123

183/219

aagcgcgaaa ttaaccctca ctaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtagcggc 60
cgctctagaa ctagtggatc ccccgggcng caggtttctg ggtagaaaca tgcattttgc 120
ttactgagta gagaacaaag ttacattgg acttgtaggg caggacgaca ggggaagctt 180
gggaagccag caacctgcag gaagagtaag ccggtctacc aacaggtttt gacctttgt 240
ttcaaaaata aactcaaggt gctagattca gtatcaccaa ggttttacca tgtgaccttg 300
ggcaagtcag ttctctcct tgggtcagt tcacctgac ctggggaaat cagacaccag 360
gattaggta tctttcatga cccctccag ccctggacat tccataggga ccattcta 420
cagttggcat gtgccaggca cccagcagga agctgcctgt ggcatttcca ttctactgaa 480
ttctccttgt aacctttgg ctttctaagg tgggcaccaa gcatggttga atgactcgcc 540
caaggccaca tggctaataa ggaacagagc cggctctgca gactctaagt gactgaagaa 600
cttcttatgt gtggtttctg ttcttggcag ggagctttag tgggtccag ggcaggggga 660
aaagagagag ctacatgaga atgggcatgc ccgtcttcca acagccatct ccactgtcca 720
accgttgcta ggcaacatga agcccatgac tgcagctctt caggaggccg aggcaggag 780
atcacaagtt caagcctacc tggggctgca aagtgagttc aaagctgggg cagcttagtg 840
agaccttgin tcagagtggg aaagtaaaag gatgggtaag gatgtaanag cncagiggaa 900
agggactcgg ccaanggggt gaagnactaa gggcacgagn attcaanccc caagnaactg 960

184/219

canaagaagn ggggng

976

<210> 124

<211> 987

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 124

gcaagcgcga aattaaccct cactaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60

gccgctctag aactagtggg tccccggggc tgcaggaatt cggcacgagg cgtgcggggc 120

gggggcgccc gacggcgctc gagggcgccg cggacgaggc ctgagggagg ggacgcgatg 180

ctggagacct tgcgcgagcg gctgctgagc gtgcagcagg atttcacctc cgggctaaag 240

acgttaagcg acaagtcaaa agaagcaaaa gtaaaaagca gaccagagc tgcctccctac 300

ttaccaaagt actctgctgg gctggactta cttagcaggt atgaggatac gtgggctgca 360

cttcacagaa gagccaagga atgtgcagac gctggcgagc tggcggacag cgaggtggctc 420

atgctgtctg ccactggggg agaagaagag gaccagcctg gccgagctgc aggagcagct 480

gcagcagctg ccagctctcc tccaggacgt ggagtccttg atggcaagcc tggctcattt 540

agagacgagt ttggaagagg tagaaaacca cctgttgcat ctggaggact tgtgtgggca 600

gtgtgagtta gaaagacata aacaggccca tgcccagacac ctggaggatt acaagaaaag 660

185/219

taagaggaag gagcntgaag ccttcaaagc tgaactcgat acagaacacg cacagaagat 720
cctggaaatg gagcacaccc agcagctgaa gctgaaagga gcggcagaag ttcttttcga 780
ggangctttc cagcaggaca tggagcaata cctgtccaca ngtcacctgc agattgcaga 840
naaggcgaga gcccattgg ggcagcatgt ccttccatgg gaagtgaatg ttggacgtnc 900
ttggagcaga atggacctng attgaccct cttingacce aagaangggg ctcgatggc 960
cttccittaa acnncctggg ggngang 987

<210> 125

<211> 998

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 125

caagcgnga aattaacct cagtaaagg gaacaaaagc tggagctcca ccgcggtggc 60
ggccgctcta gaactagtgg atccccggg ctgcaggtgg aggtgagat tgtacagcaa 120
caggcacccc cticctatgg acagcttatt gccagggtg ctatccacc tgtagaagac 180
ttccccacgg agaaccceaa tgacaacct gtgctgggga acctacgttc tctgttcag 240
atcttgcgcc aggatatgac tccaggaggt acttccgggg gccggcgctg ccagcgtggc 300
cgctcagttc gtcggctggt tcgcaggctc cgtcgttggg gcttgcttc tcgaacaaat 360

186/219

actccggctc gggctcctga gaccagatcc caggccacac cttctgttcc ctctgaggcc 420
ctggatgaca gcacaggta agcctgtgag ggtggggcag taggaggga ggaatggggag 480
caggctcctc cactacccat caagtcctcc ataccaaccc caagcacact tccagccctt 540
gctactgcct ctgaacctcc agggccacta ccctcagtgc ctgtagaatc atcactgttg 600
tctggagtig tccagggttc taaggaggcc gcctcctacc cagcctgttg cccccaggnc 660
ccaattggac cccaatggaa ctacacacagc agtcctgcct tctagaggat gaggatgatg 720
tatgttgatg ccattggctg agccaagaag tctgggtggt ttgaggcaga ggaatgaanca 780
atggctttgc ctgagagaac tctagacaca atglaatgaa tctgggtgna agtgggttca 840
gaaaagttaa gtgtccctc gaaggggggg ggcccgggta accccaaatt gggccctaan 900
aagtggagtn cggaattaaa aattcaantg ggcngtnng gttttaaaaa aggnnggtga 960
antnggggaa aaaccttgg gggttaacca aactttta 998

<210> 126

<211> 978

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 126

aagcgcgaaa tnaacctca cttaaaggaa caaaagctgg agctccaccg cggtagcggc 60

187/219

cgctctagaa cnagtggatc ccccgggctg caggctaaac tttattgaca aacttgctgc 120
agacattttg acatagggtta agctacctat ttaggcagac ttacacatgt agcatttaat 180
cttccaaaaa caaatggga ggacgtaca aatccattag gactttaact tatgtacaaa 240
gtggactttg attctcttct cattcagctg cagtgtccct ttttatgtca tgctagtgtt 300
gagacatact taactaccgt ggcaacagtg cgaaactgac aatgggtcaac ttaatgaaca 360
gacgtcactt ttcggncccc agtgtccaag tgnagttttt catggagtgc agaattctcag 420
atggacaaaa tacncttgga cattttaaat actgaaaatt tggattatnc agtactatta 480
ttgaaaagac tgtggctaaa aagaactgtc agacnccatt aggcggccag cttnccnccc 540
cagcaaccta ttcaaccccc cccccacta agtatctctc aacacngtat gtctggggct 600
agatttcaaa acccacagaa tgaaaaaggc attttacaaa cctaaatttt gtgtgtgtt 660
taagncaatt taacgntnaa aaatngcatc caacnattta antcatgaga tctttentat 720
naaanattna aacentaagn attcaaccg gccangnggc ttttaaaagg ggaaatgntt 780
tttagnagac aatccngngg cnccttttt tacnaagggg gggcaccnaa aggggccggt 840
naanaantgg tgaattntta caggntaaa gccagnccn ggaaattinga aanggaggcc 900
ccagttingg ggaatccngg caacnangg ncntnnancg gggggggccc aaaaaanana 960

188/219

aaggccnaaa gnnaaaan

978

<210> 127

<211> 936

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 127

agcgcgaaat taaccctcac taaagggaac aaaagctgga gctccaccgc ggtggcggcc 60

gctctagaac nagtggatcc cccgggctgc agggatgaacc tcagtctctcc atcaaacaatg 120

cttctctgtcc ggccacaaac taaccctctg atggggggac ccatgcctat gaacatgccc 180

ggtgtaatga cgggcaccat gggaatggcc cctctgggga acaccgcagg atgagccagg 240

gcatagtggg catgaacaatg aacatgggga tctcgccctc ggggatgggc ttgacaggca 300

ccatgggaat ggggatgccc agcatggcca tgccgttctg gaactgtgca gccaagcaa 360

gatgaccttt gcaaactttg gccaaacttta gtaaataaaa ggttgtaacg gagcgagtgg 420

aagaagcctc tgtagctgca ataggatgat ttgggctgga agatgctaag cagttccctt 480

ttcttttcac agttaattaa ataaccacat aaagaaccaa aaaggctgct gtctcagaag 540

cgaatgaaga gcacttcaga cgaggcagtc aggatcggtt tccccagtga agatacatat 600

gctcctaaat ggggcgaggg ggcacgagag cctctctgtc agagagcatg tgtcccagcg 660

189/219

tagtctgtgg gaggactggc atggatgggg gctgagtaag tgtgcttcac tcictaactt 720

tatactttct ctccctgagg aantigattt tctgtccctc agncgccttg tcatgantgg 780

gncgtttcct ttantaccaa tctccaagtc caaggtaatg aaancattaa aagtingggn 840

gnatcagnit tttttatnaa aaatataaaa ngngggggcc aaaaaaaaaa gggatancca 900

anggggaatt atgggcngag tccaaaggga accnng 936

<210> 128

<211> 931

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 128

gcaagcgca aattaaccct cactaaaggg aacaaaagct ggagctccac cgcggtggcg 60

gccgctctag aactagtggg tccccggggc tgcaggaatt cggcacgaga ttaggagtag 120

cagcctgctc taacggtttc agggaagatt ggctgtgggt ttccgcagag tgtgggggag 180

ttcctgctta tccaactggc tcgccaatggc ttcctgtgg gcaagggcct ggcaagagcc 240

ctggacaaaa aacgggacat cattgagaag acacctgctt tgtgcgaggt gtctgcccgg 300

caaggggagg ggggcccggg acccaattcg ccctatagtg agtcgtatta caattcactg 360

gccgtcgitt tacaacgtcg tgactgggaa aaccctggcg ttaccaact taatcgccct 420

190/219

gcagcacatc cccctttcgc cagctggcgt aatagcgaag aggcccgcac cgaicgccct 480
tcccaacagt tgcgcacctg naatggcgaa tggcaaattg taagcgtaa tattttgta 540
aaattcgcgt taaatttttg ttaaatacagc tcatttttta accaataggc cgaaatcggc 600
aaaatccctt ataaatcaaa agaatagacc ggagataggg ttgagtgttg ticcagtttg 660
gaacaagagt ccactattaa agaacgtgga ctccaacgtc aaagggcgaa aaaccgtcta 720
tcaggggcga tggcccacta cgtgaacat caccctaatac aagtitttttg gggtcgaggt 780
gccgtaaagc actaaatcgg aaccctaaan ggagcccccc ggatttagag ctltangggg 840
gaaagccggg cgaacgtggg cgagaaaagg gaagggaaga aaagcggaaa ggagcggggc 900
gctaagggcc ctgggcaaat ggtaaccggg t 931

<210> 129

<211> 936

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 129

gcaagcngg aaattaacce tcactaaagg gaacaaaagc tggagctcca ccgcggtggc 60
ggccgcicia gaactagtgg atccccggg ctgcaggat tgacggttct gaggtgaag 120
ggaagctggg tctgtaacct agtatctctg acaagacagt gttacaatga gctaatectc 180

191/219

ttcaagactc agagctgaga caaagtcatt tttctttcag tttttgttgt cacacctttt 240
tttattttat tgtatttaaaa cctagccata atgaagatag aatttctgtt tacatttttg 300
gcatgatgtg gctgcatgca gaggcitcat gcttttgaac cctgtatttg attgtgctgc 360
atgggaggct tttattcttg gacagcttag tacagaagca ggagaagggt tgagtctctg 420
gggatgcaaa ggacggatgg cctatatctt aaagacagtg tcatcgccct tccgtgtgtc 480
tgaccaggg ctgtgtgtgt gctaggcgag tgctgttgaa aggtagacac gctgggtggag 540
agaaacaagc tgctctcacc accacacact tctgcagagc ctttgtgtgc cagctccccg 600
tgaggctgtc ctccagttct ctccagccag aattgctgtg gcaacaatat ttttataaag 660
cagtgggctt catcttagga ccagtcatt aataagcgtg gccgtagctg agaagagcca 720
ctttccaaga gcgcaccaga cacagtgagt ggtgatcagc ccccttcttg ccigccctga 780
tgattgagaa tcccaaaaac tctggtaaatt ccataagtgg gggaacagaa ggcaccggat 840
ccttccaata agccagagaa gggaantngg ggctttaagg accatttggt gccaaaaagg 900
gttttttggg ggggnnttggg ggggaggtcc cgtttt 936

<210> 130

<211> 955

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

192/219

<400> 130

caagcgcgaa attaaccctc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc gcggtggcgg 60
ccgctctaga actagtggat cccccgggct gcaggccage ctctgtctct gaggagagct 120
gttagagact tgactgagga aagccagcac ggagtcccag aatttaaacc gtgactatac 180
tttaaacatt tactagcact ccctagccag ccctgtcaga ggataacagc agcactagct 240
gacattactg aacagtgcctg gtcgagactg ctttgtgtaa gtgtcttgac caatcttcaa 300
gagaactctg tgaggtiact atgattatcc aaatgctact gaggaaaaca gaagattaga 360
gatactggac ttattcagat tctggcaact attaaatggg caggacgtaa tcgttactgt 420
ggtcagaaaa tccccctttt agatgagatt ccagccctc tctaatgcc tcaggttcac 480
aaggaaggca agagagggca gaaccagag ggaatgtgtc atgagtgtgg gtagggaaaa 540
gtgcaggaag ctgagaatag gatgtctact ggagtattga tgggattgca gagcgggtccc 600
aggtaatgcc cctaagiatg gcaccattcc catgaaaaaa cactcagggc aagcagggtg 660
aactctcaac tccaaatatt tacgtgctaa aattcctaga aagtacact ggactctacc 720
tggtcgtgaa gtccctatt tgggtctcta acaattatct tctgttcaca cangggatcc 780
ctgtatctca agtctcccat ggagattcca ggcctttcaa nggggctggg gggagttgaa 840
agggggagcc actggggcct tgaaaggggg ggccactngg gcccttggtt tngtccngn 900

193/219

gggctaaaag ggcacggggg gtaaatecaa ggttccccct gggnaacaa gggaa 955

<210> 131

<211> 929

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 131

aagcgcgaaa ttaaccctca ctaaaggga caaaagctgg agctccaccg cggtagcggc 60

cgctctagaa ctagtggatc ccccgggctg cagggtgag gcagccatct tgctcttgcc 120

gcgtgctggt gttagaggac cctccccgct gcagatttac caacagcatg aatcaagaaa 180

agttagccaa gcttcaagct caggctccga tagggggcaa ggggacagct cgcaggaaga 240

agaaggtagt gcataggaca gctactgctg atgacaaaaa gcttcagagt tcactaaaga 300

aactggctgt gaacaataa gctgggtattg aagaggtaga catgattaaa gacgatggaa 360

cagttattca tttcaacaat cccaaagtcc aggtttccct ctccgctaac accttggca 420

attactggtc atgcagaagc caaaccaatc acagaaatgc ttcttggaat actaagtcag 480

cttggtagct acagcttaac gagccttaga aagttagctg aacagttccc acgacaagia 540

ttagatagta aagcacccaa accagaagac attgatgaag aggatgatga cgttccagat 600

cttgiagaaa attttagatg agcatcaaaa aatgaagctt actaaaatct tctgggtttt 660

194/219

ggaagctggc atggactaga ttttaacaatc agctctgttg ttccaaagtt ttacagacat 720

ggagaacatc acctgttatt agttccgtaa tataaaatgn nngtatatta atgatgctgt 780

tttatcagca tttcctggtc attgggattt tgcattttgc acttcttccc agggatcgga 840

ttcctttggg ncaaaatatg gaggaattgg giaccagggt gaaggggtgg ttttggnttt 900

tttggggggg gnccttttgg gnggtggaa 929

<210> 132

<211> 730

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 132

gaggagctgt gccggcagat ccagcaggag gaggacgaaa agcagcggct acagaatgag 60

gtgaggcagc tcacggagaa attggcccgc gtcaacgaga acctggcgcg caagatcgcc 120

tcicgcaacg agtttgaccg gaccattgcg gagacagagg ccgcctacct caagatcctg 180

gagagctctc agactctgct tagtgtaatc aaaagagaag ctgggaacct gactaaagcc 240

acggcttcag accagaagag tagtggagge aaagacagct gacaagccct gtcicagccg 300

tggcctatgg ctgctcccca acatgtctgt cctaaagcat ctttgttctc catggccica 360

gatgtctttt atctctgggtg cccigagtgt caatttctga cctccacctg cctigagtga 420

195/219

caagacaage cccaggacag tccaatggaa gatgtgttcc cagctccgca ctcacatgtg 480
ttattggaac cttagcttcc tggtcagctc catgaggagc ctctttctga agctccctga 540
tctccttggg ctgccaggaa tgtctcggtc ctagtccagg tactgtggga gcccctcact 600
ttgtctcttc agccactagg gccccaggcc aggcatattg aagaaagaat cttaggtcca 660
gaaccaaacc cttagggccc atccccaatga cctctgggtg ttcaataaag gtgtttgcaa 720
aaaaaaaaa 730

<210> 133

<211> 709

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 133

tttttttttt ttttttttag gactcatgcc tctctttatt cagatttccc caccacatta 60
cagcaaattg tgaaccagc cttaggtctg gggtcagggg ccctgaacct ccctaggatt 120
ccccagctct gtccagcaac tttcttttcc agttcacaga cagagagatg gagaccagat 180
gggcacagcc agtctggcaa tctttaataa gaagagaggg cttaggcagg gctctgtatg 240
tcctcgctgg gcctgtggtg tctctggctg gggttcaggg agctgttgat ctggtgtgtg 300
agggtttcca gtcttgggtt ctggtttggg atcccagatc ctctcttag cacttgtggc 360

196/219

atgittgagg gccctgcagg caggggtggt gcagagggtt ccacttcctc tcccatcagc 420
atctctgcca ggactcgtgt ctgtgtccag tcactatggt tcctctcttg tgggggcttg 480
gcagagcctg ggcttggttg aggtgcccag ggtggggggc gcacagatgg agataatgtg 540
cctggggcct caggctccag cacctgctgt ggtgcatggc attctctcca tgggcaggcc 600
cagtgggtca aggacactcg gcacagagga cagaggtagt agcagtagca gaggggtggc 660
agtacatggc agaggcagct ggagtcattc tgcagggcac acggtggca 709

<210> 134

<211> 376

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 134

gattctatgg cticagtgtg aagaactgtg gagcccagcc tgccctgcac acctggaccc 60
tgicccctgca ctgcctgtgt tccctccac agccaacctt gctgggtccag cctgggggta 120
gggggtgggg acatctgcat cctgtcactc ctgtgtccc tgagcttcag cccctcactc 180
cacactgaga ataagaatct gagtgtgaac ttgattgttc acatccttga cacaagtgtg 240
gatggctttt taaattactg gatggaatac ttagaggttt ttgttttggg gtittgtttt 300
gttttgtttt gtttttgaaa aaaataaatg gcagatgaag aagcttccaa aaaaaaaaaa 360

197/219

aaaaaaaaaa aaaaaa

376

<210> 135

<211> 723

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 135

tttttttttt tttttttttt agctttcaaa ttgctttaat acttgcactt acaagcaaca 60

ggtaaacaac gaacagttaa tactgggcag tgtcacaggg gtgggggctg gagaggggag 120

tagaggatca agcaagcttc acacaaaggc gtttatgtga aggacaggaa acacgggcat 180

gctaaattct gcagagaata caacacatac acactacagg ggctggagac gtggatgaca 240

ttaagaaaca tgtctgaaat atgaagcttg gtatacagtt tataatgtga gtgtccccgg 300

tgatggccat tcttggttgt caacttgact ccatcttgaa tgaactaaaa tctaatgaca 360

gagggcacac ctgggaggga gttttgctta atttgaagtc agtagatctt ctttaatcct 420

gatcttgagg tgggaagaca cacctctagt ctgggccacg ccttctgcta gaagtctact 480

tgaggacagg acgaaggag cttttgctct ttgcctgctt ggcctcacct tgttggcaag 540

tccattcctt cactggcggt agagcctacg tcattgggat tccagagtct actgaagacc 600

agccgagaca cccagccica tggcccgaac tgcctggattt ttggacttct tgcctcactgt 660

198/219

tggattagct ggacagaagc ctgtaagtca ttcttcttct gggaattcct tctgtaagtg 720

ctg 723

<210> 136

<211> 594

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 136

ctccccitca tgaacttcct gcctatcact tattgccttt cctaattaat gttgagaatt 60

ttacaagccg tattgattga cccacctgtt catccatggc agaatgacgc gictttgtct 120

actgtcttct ttgtttacta tatgcccaag gttattccag acatgggaaa tacagacaca 180

catgtttctg ttctctctg tgatgggcac acaatccaag gagcacatcc tgcacttttc 240

aaaactgaac ataactagat cagctgggtga ctttgtcact tggctgaaat cccagaata 300

agccaattcc atcctaacct ttgcataatcc agtacgacta cccaacattg aagaacaatg 360

attgttctta gagtctaattg aattttcaag tatttcttac ccgaaaaata ccaagaacta 420

tgcaaaaatg gaaaacaaag gtttagttac ttacaagctt taaacttaatg gatgtaagga 480

atgtgtacct gatitaaagat ggtgatgagc ccacagtagg cttattttact tgaaaacatt 540

ttagtcatca tgiattttccg gttgctaaat gtgcttgtgt ttataaaaatt caaa 594

199/219

<210> 137

<211> 433

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 137

gagtgtgggg ctggagagat ggctcagtg ttaagagcac ccgactgctc ttctagaggt 60

catgaattca attcccagca accgcatggt ggctcacaac catctataaa gagatccgat 120

gccctcttct ggtgtatctg aggaaagcta cagtgtactt atatataata agtatagaaa 180

tctttaaaaa aaaaaaaaaa gaatctgagt gtgaacttga ctgttcacat ccttgacaca 240

agtgtggatg gcttttttaa ttactggatt gagaatactt agaggttggt ttttggtttt 300

gttttgtttt cttttgtttt aaataaatgg caggtggaga agctcccaa aaaaaaaaaa 360

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420

aaaaaaaaaa aaa

433

<210> 138

<211> 619

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 138

200/219

tgaatttagt gctgaacatg aagagtaaac tattiaccac aaagaagttc ctggagtttg 60
gagaagtaac gaatgtatcc atctgtacat gatttacatg ttgtggatgc ttgttaaaca 120
tttcccatg ttttaattgt gtttcagcag gtgtgaattg cctctgtgtg tagctgaaca 180
tgagtcatta tctggtcctg tatgaaatgg aatgtatggt attttctgta tcattttcct 240
gaggctgtgt ttggggagcc acacattcga atacagtttt cctgatcact tgatttcttg 300
tgcacctgat ttttgcctc aaaggaatta ctgccacaat atattttatt tattcttttag 360
attttagcct tgcagttga agtgcttcac atgatggtgt taaaaactac ttgtcccttt 420
actgggggtt tgggggttgt taaaagatgg ggaggaagaa tgcaaatggg tcattgttaa 480
cctgtcccca ctgatccac ctgtactcat agtcccttcc aggatgggat tctgatgttt 540
cctacaatac ggtgaccata ggcaacttgt tacctgaata aaggatcgat tttaaacagc 600
caaaaaaaaa aaaaaaaaaa 619

<210> 139

<211> 1018

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 139

actngaaatt aaccttact aaaggaaca aaagctggag ctccaccgcg gtggcggccg 60

201/219

ctctagaact agtggatccc ccgggctgca ggattgacca ggcccatagg cagaatgtct 120
cctctctttt tctgccagtg attgagtcig tgaatccttg citaattctg gttgttcgca 180
gagaaaaat ttaggagat gcaatggaag tcctcaggaa aaccaagaat atagattata 240
aaaagccact caaagttata ttgttggag aagatgctgt tgatgctgga gggttacgca 300
aagaattttt ctgtctatc atgagggat tattggatcc taaataggc atgtttcgat 360
attatgaaga ttccagggt atttggttt cagataagac atttgaagac agtgatttgt 420
tccacttaat tgggtttatc tgtggattag caatttataa ttttactatg tggacctcca 480
cttccctttg gctttatata agaagctact gaaaaggaag ccatccctgg atgatctgaa 540
agagctgatg ccagatgtag gggagaagca tgcaacaatt gctggactac ccggaggacg 600
atatagaggg aaacatttgt ctaaacttta cgatcacagt tgaaaatttg gnggcaacag 660
gaagtgaag agcggntctg aaagggtggc agacancgt ggttaacaaa cagnaatcgg 720
gcagggagtn tgtgaagccn aaggngggnt accanatncg anaaaatnca gngggnnnct 780
ttaaaaaagg ggccttccca aggccgggt ttccataagg gtncngnggg ngggaaaaaa 840
gtntttccgg gnnnttcn agnccccaaa nggaaattta nnaaggggna nggggnaat 900
nggggaanna ccgaanntaa ngnnntgggg gaagghaach tgggnnngan gaaaganncn 960
gggnngnncn nnangnaaag ggnannnggg ggggggaaaa acccccnngg ngnnaaag 1018

202/219

<210> 140

<211> 371

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 140

tcctagcaca ggggctccaa tggcctgggc agcagaggat tatggctctaa gccgtttgag 60
taatcatcgg ctctctccca gcacattggt gaggaaacag gccacgactt gtcactcagc 120
actaaccccc agttgttgaa cagccttctc cagccctgct ttaggatgac aaatgaataa 180
cacctaggca tagaaaccag tctctctggt ttgtttgtat tatgttcttc aacattaaag 240
atttaaacaa caaaggatat actacagtct tgaatctaaa gtaatttgct aactattttg 300
attcttcaga gaactactaa taaaaatcta aaaggtaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 360
aaaaaaaaaa a 371

<210> 141

<211> 1024

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 141

aagcnggaaa ttaaccctca ctaaaggga caaaagcagg agctccaccg cggtaggcggc 60

203/219

cgctctagaa ctagtggatc ccccgggctg caggcttttt cgcacatccc gacctgttcg 120
tgagcattag tgatcagaag gaccccaggg atcggaatgg tcaggttgtg aaatgggtacc 180
tctcggccctt ccatgcagga aggagaggat cagtggccaa aaagccgtac aatcctatit 240
tgggtgagat ctttcagtgc cactggacgt tgccgaatga tactgaagag aatgcagagc 300
tcgtttcaga agggccgggt ccctgggtgt ctaagaacag tgtaacatit gtggctgagc 360
aagtttccca tcatccgccc atttcagcct tttatgtga gtgttttaac aagaagatac 420
aattcaatgc tcaattgaag gggaatggaa tggcatcatg tatgcaaaat atgcaaccgg 480
ggaaaaaact gtctttgtag acaccaagaa gtgcctata atcaagaaaa aagtgaggaa 540
gttggagat cagaacgagt atgagtcctg aagcctttgg aagatgtcac ttccaattta 600
aaaatcagag acattgatgc agcaacggga agcaaagcac agacttgaag gagagacaaa 660
gagcagaagc gcgagaacgg gaaaggagaa gggaaattcc agtggggaga cgagggtctt 720
ttccacgaag anggaagaat gccgggggtt acgnatggaa nccittantg gaaagcggnc 780
ttgggggtacc tggggaagcc attaaagccn gaaanccggg gtccaccgg gggtgnaccc 840
agggggcant nnggcgnaac nnaaggnaa caaatcngnt tcttccaggg ggnaancitg 900
nccacttnc cttncnttaa aagggggggg ggtncceaaa ncnccngggg ganancgggg 960
anttingann cnggnnggac cnaattitaa aagggggaaa gngngnttnc ccntttitaa 1020

204/219

aang

1024

<210> 142

<211> 790

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 142

gcggctgtga ccgagagcac agagaatgaa ccagccttgc aggagaaaac actacaaatt 60

agctgacagc tggtagagaa gatgciclat ttctgtgctc agtgcctgtg ggatctgtga 120

tggaatgat ggccggctgt ggtgaaatig atcactcact aaataatgctt cctaccaata 180

agaaggcgag tgagacctgt tctaacactg caccttctct aacagtccccc gagtgtgcc 240

tttgtctaca aacatgtgtt catccagtc gtcgccctg taagcatgtt ttctgtttatc 300

tgtgtgtaaa gggcgcttca tggctcggga agcgatgtgc tctttgtcgg caagagattc 360

ctgaggatctt tcttgacaag ccaaccttgt tgcaccaga agaacttaag gctgcaagca 420

gaggaaatgg tgaatatgtg tggattatg aaggaagaaa tggatgggtg cagtatgatg 480

agcgcaccag tcgggagcta gaagatgctt tticcaaagg taaaaagaac acggaaatgt 540

taattgctgg atttctgtac gtgtctgac ttgaaaacat ggttcaatat aggagaaatg 600

aacatggacg tcgcagaaag attaaaagag atataataga tataccaaag aaggagtggtg 660

205/219

ctggacttcg gctggactgt gacagcaaca ctgtaaatct agccagagag agttctgccg 720

atgggtgcgga cagtgggtca gcacacactg gagcttctgt gcagcttcca gtgccatctt 780

ctacaggcct 790

<210> 143

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> forward primer for amplification of TRDH-344 DNA

<400> 143

agggtagaag tggagtctg 19

<210> 144

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplification of TRDH-344 DNA

<400> 144

caaaggcaca ttgtgaggga 20

206/219

<210> 145

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> forward primer for amplification of TRDH-271 DNA

<400> 145

tgaagtagga atgctggtct

20

<210> 146

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplification of TRDH-271 DNA

<400> 146

acgatgtact ccaccagctt

20

<210> 147

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

207/219

<223> forward primer for amplification of TRDH-284 DNA

<400> 147

agaacatgcc actggtcgt

19

<210> 148

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplification of TRDH-284 DNA

<400> 148

acagtgcaga ccgatctca

19

<210> 149

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> forward primer for amplification of TRDH-363 DNA

<400> 149

gggtatggga tgacctgaac a

21

<210> 150

208/219

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplification of TRDH-363 DNA

<400> 150

agcacaggta ctgcagggat g

21

<210> 151

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> forward primer for amplification of TRDH-292 DNA

<400> 151

ggcgtccgac gatgccaa

18

<210> 152

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplification of TRDH-292 DNA

209/219

<400> 152

gccctacaga gtcttacaca

20

<210> 153

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> forward primer for amplification of TRDH-122 DNA

<400> 153

gagcaaggtc ctccatagt

20

<210> 154

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplification of TRDH-122 DNA

<400> 154

atgtcagcag gagtgggtta

20

<210> 155

<211> 20

<212> DNA

210/219

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplification of TRDH-110 DNA

<400> 155

agattgtccc aacagagagg

20

<210> 156

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplification of TRDH-110 DNA

<400> 156

gacaggaaat ggtgatgcta

20

<210> 157

<211> 883

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 157

gccggcaggg ggcactgcgc gccgggcatg gaggcgcgtga agagccgcaa gaggcgggaag 60

ggtaaagccg gggcagcagc cggcgggtccc gcgacctcg ccgtgtgcgt gtgcaagagc 120

211/219

cgctaccggtgtgtcggcagcgacggcgctacctacccca gcggtgccagctgcgcgcc 180
gccagcctgcgcgtgagagccgcggagagaaggccatcacccaggtcagcaaaggcacc 240
tgcgagcaaggtccctccatagtgcgccc cccaaggacatctggaacatcactggcgcc 300
aaggtgtacttgagctgcgaagtcacgcgaatcccaaccccgctcctcatctggaacaag 360
gtaaaaagggaactctctggagttcaaaggacagaactcttgctgggtgacgggaaaac 420
ctggccattcagaccgggggtgtccagaaagcatgaagtaactggctgggtctggtgta 480
tctcctctaa gtaaggaagacactggagaaacgagtgccacgcgtccaa tcccaagga 540
caggcttcagcgctggccaa aattacagtggttgatgccatcacgaaat accagtgaag 600
aaaggtgaaggtgctcagctataaacctgcgaatacattagcctctgtagctgacgcgt 660
ctcagacagctgacagctgt aaccccactcctgctgacatattcctttgaacctaacac 720
actaacacttattacagcagctgattttacagagaaatcaaagataacacataagact 780
atctacaaaa gtttatgtttatttacaga aaaagcatgcagagcttttaacaaaacaaa 840
taaaattcttattacaacaggaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 883

<210> 158

<211> 207

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

212/219

<400> 158

Ala Gly Arg Gly His Cys Ala Pro Gly Met Glu Cys Val Lys Ser Arg

1

5

10

15

Lys Arg Arg Lys Gly Lys Ala Gly Ala Ala Ala Gly Gly Pro Ala Thr

20

25

30

Leu Ala Val Cys Val Cys Lys Ser Arg Tyr Pro Val Cys Gly Ser Asp

35

40

45

Gly Val Thr Tyr Pro Ser Gly Cys Gln Leu Arg Ala Ala Ser Leu Arg

50

55

60

Ala Glu Ser Arg Gly Glu Lys Ala Ile Thr Gln Val Ser Lys Gly Thr

65

70

75

80

Cys Glu Gln Gly Pro Ser Ile Val Thr Pro Pro Lys Asp Ile Trp Asn

85

90

95

Ile Thr Gly Ala Lys Val Tyr Leu Ser Cys Glu Val Ile Gly Ile Pro

100

105

110

Thr Pro Val Leu Ile Trp Asn Lys Val Lys Arg Asp His Ser Gly Val

115

120

125

Gln Arg Thr Glu Leu Leu Pro Gly Asp Arg Glu Asn Leu Ala Ile Gln

130

135

140

Thr Arg Gly Gly Pro Glu Lys His Glu Val Thr Gly Trp Val Leu Val

145

150

155

160

213/219

Ser Pro Leu Ser Lys Glu Asp Thr Gly Glu Tyr Glu Cys His Ala Ser

165

170

175

Asn Ser Gln Gly Gln Ala Ser Ala Ser Ala Lys Ile Thr Val Val Asp

180

185

190

Ala Ile His Glu Ile Pro Val Lys Lys Gly Glu Gly Ala Gln Leu

195

200

205

<210> 159

<211> 1120

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (211).. (1086)

<400> 159

ctgggccagc tgggtggcgcc cagcaaagcc aaggcagaga aacccccact gtcggcctcc 60

tcaccccagc agcgcccccc agagcctgag accggtgaga gtgcgggcac atcccgggct 120

gccacgcccc tgccctctct gaggggtggaa gcggaggctg ggggctcagg ggccaggacc 180

cctccactgt cccggaggaa agctgtagac atg cgg ctg cgg atg gag tlg ggt 234

Met Arg Leu Arg Met Glu Leu Gly

1

5

gct cca gaa gag atg ggg cag gtg ccc cca ctt gac tct cgc ccc agc 282

214/219

Ala Pro Glu Glu Met Gly Gln Val Pro Pro Leu Asp Ser Arg Pro Ser

10

15

20

tcc cca gcc ctc tac ttc acc cac gat gcc agc ctg gtt cac aaa tct 330

Ser Pro Ala Leu Tyr Phe Thr His Asp Ala Ser Leu Val His Lys Ser

25

30

35

40

cca gac ccc ttc gga gca gta gca gct cag aag ttc agc ctg gcc cac 378

Pro Asp Pro Phe Gly Ala Val Ala Ala Gln Lys Phe Ser Leu Ala His

45

50

55

tcc atg ttg gcc atc agt ggt cac cta gac agc gac gat gat agt ggc 426

Ser Met Leu Ala Ile Ser Gly His Leu Asp Ser Asp Asp Asp Ser Gly

60

65

70

tcc gga agc ctg gtt ggc att gac aac aaa atc gag caa gcc atg gac 474

Ser Gly Ser Leu Val Gly Ile Asp Asn Lys Ile Glu Gln Ala Met Asp

75

80

85

ttg gtg aag tcc cac ctc atg ttt gcg gtc cgg gag gag gtg gag gtg 522

Leu Val Lys Ser His Leu Met Phe Ala Val Arg Glu Glu Val Glu Val

90

95

100

ctg aag gag cag atc cgg gaa ctg gcg gag cgg aac gct gcg ctg gag 570

Leu Lys Glu Gln Ile Arg Glu Leu Ala Glu Arg Asn Ala Ala Leu Glu

105

110

115

120

cag gag aat ggg ctg ctg cgc gcc ctg gcc agc ccg gag cag ctg gct 618

Gln Glu Asn Gly Leu Leu Arg Ala Leu Ala Ser Pro Glu Gln Leu Ala

125

130

135

215/219

cag ctg gcc ctc ctc ggg ggt ccc acg gct tgg gcc ccc tgc gcc caa 666

Gln Leu Ala Leu Leu Gly Gly Pro Thr Ala Trp Ala Pro Cys Ala Gln

140

145

150

tgg gcc ctc cgt ctg agc ctc cct tcc ctt aca atg tgc ctt tgg ggc 714

Trp Ala Leu Arg Leu Ser Leu Pro Ser Leu Thr Met Cys Leu Trp Gly

155

160

165

tgc ccg gcc ttg cgt cag ccg cct gcc ccc tct tcc tat gca gct tta 762

Cys Pro Ala Leu Arg Gln Pro Pro Ala Pro Ser Ser Tyr Ala Ala Leu

170

175

180

atg tcc ccg tgt ccc cgg ggt ggg agt tca agg ctc agt aat ggc ctg 810

Met Ser Pro Cys Pro Arg Gly Gly Ser Ser Arg Leu Ser Asn Gly Leu

185

190

195

200

gtc ccc cgg ccc ctg ccc cat ctc ctc atc atc ccc agc ctt gat gga 858

Val Pro Arg Pro Leu Pro His Leu Leu Ile Ile Pro Ser Leu Asp Gly

205

210

215

gga ggg agg gct tca gga cgg ggc gtc aga ggg agc ccc ctc tgg gag 906

Gly Gly Arg Ala Ser Gly Arg Gly Val Arg Gly Ser Pro Leu Trp Glu

220

225

230

gga acc aac ccc cac cct ccc tcc tgg gac ccc cca gca gta gac ggc 954

Gly Thr Asn Pro His Pro Pro Ser Trp Asp Pro Pro Ala Val Asp Gly

235

240

245

ttg ggg gag tgc gag gct ccc cgg cag aca ccc cac ccc cat ctt gtt 1002

Leu Gly Glu Ser Glu Ala Pro Arg Gln Thr Pro His Pro His Leu Val

250

255

260

216/219

ccc ttg agg tgc ctc ctc tcc tct gcc cag ggg agg gag tgt gga cag 1050
 Pro Leu Arg Cys Leu Leu Ser Ser Ala Gln Gly Arg Glu Cys Gly Gln
 265 270 275 280

tat ctg gaa gtt ctg gga ttc agg ttg ita tta aaa taataataat 1096
 Tyr Leu Glu Val Leu Gly Phe Arg Leu Leu Leu Lys
 285 290

aattaaaaac tctgaagaaa ctig 1120

<210> 160

<211> 292

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 160

Met Arg Leu Arg Met Glu Leu Gly Ala Pro Glu Glu Met Gly Gln Val
 1 5 10 15

Pro Pro Leu Asp Ser Arg Pro Ser Ser Pro Ala Leu Tyr Phe Thr His
 20 25 30

Asp Ala Ser Leu Val His Lys Ser Pro Asp Pro Phe Gly Ala Val Ala
 35 40 45

Ala Gln Lys Phe Ser Leu Ala His Ser Met Leu Ala Ile Ser Gly His
 50 55 60

Leu Asp Ser Asp Asp Asp Ser Gly Ser Gly Ser Leu Val Gly Ile Asp

217/219

65	70	75	80
Asn Lys Ile Glu Gln Ala Met Asp Leu Val Lys Ser His Leu Met Phe			
	85	90	95
Ala Val Arg Glu Glu Val Glu Val Leu Lys Glu Gln Ile Arg Glu Leu			
	100	105	110
Ala Glu Arg Asn Ala Ala Leu Glu Gln Glu Asn Gly Leu Leu Arg Ala			
	115	120	125
Leu Ala Ser Pro Glu Gln Leu Ala Gln Leu Ala Leu Leu Gly Gly Pro			
	130	135	140
Thr Ala Trp Ala Pro Cys Ala Gln Trp Ala Leu Arg Leu Ser Leu Pro			
	145	150	155
Ser Leu Thr Met Cys Leu Trp Gly Cys Pro Ala Leu Arg Gln Pro Pro			
	165	170	175
Ala Pro Ser Ser Tyr Ala Ala Leu Met Ser Pro Cys Pro Arg Gly Gly			
	180	185	190
Ser Ser Arg Leu Ser Asn Gly Leu Val Pro Arg Pro Leu Pro His Leu			
	195	200	205
Leu Ile Ile Pro Ser Leu Asp Gly Gly Gly Arg Ala Ser Gly Arg Gly			
	210	215	220
Val Arg Gly Ser Pro Leu Trp Glu Gly Thr Asn Pro His Pro Pro Ser			
	225	230	235
			240

218/219

Trp Asp Pro Pro Ala Val Asp Gly Leu Gly Glu Ser Glu Ala Pro Arg

245

250

255

Gln Thr Pro His Pro His Leu Val Pro Leu Arg Cys Leu Leu Ser Ser

260

265

270

Ala Gln Gly Arg Glu Cys Gly Gln Tyr Leu Glu Val Leu Gly Phe Arg

275

280

285

Leu Leu Leu Lys

290

<210> 161

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> primer with T7 promoter and poly thymidylate sequence

<400> 161

aaacgacggc cagtgaattg taatagcact cactataggg cgTTTTTTTT TTTTTTTTTT 60

TTTTTT 66

<210> 162

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

219/219

<220>

<223> forward primer for amplification of G3PDH DNA

<400> 162

atcaccatct tccaggagc

19

<210> 163

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> reverse primer for amplification of G3PDH DNA

<400> 163

caccttcttg atgtcatcat a

21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/02623

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/12, C12Q1/68, C07K14/47

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/00-15/90

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

GENBANK/EMBL/DBBJ/GENESEQ

PIR/SWISSPROT/GENESEQ

BIOSIS/MEDLINE/WPI

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	W. M. Bagchus et al., "Glomerulonephritis induced by monoclonal anti-Thy 1.1 antibodies", Laboratory Investigation, 55(6), pages 680 to 687, (1986)	1-40, 42-49
Y	WO, 98/24899, A1 (Kyowa Hakko Kogyo K.K.), 11 June, 1998 (11.06.98), & EP, 915156, A1	1-40, 42-49
Y	WO, 00/20575, A1 (Genox Soyaku Kenkyusho K.K.), 13 April, 2000 (13.04.00), & JP, 2000-106879, A1	1-40, 42-49
Y	WO, 98/38305, A1 (Japan Tobacco Inc.), 03 September, 1998 (03.09.98), & JP, 10-295388, A & EP, 974651, A1	1-40, 42-49

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
25 June, 2001 (25.06.01)Date of mailing of the international search report
03 July, 2001 (03.07.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/02623

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 11-32765, A 09 February, 1999 (09.02.99), (Family: none)	1-40, 42-49
Y	Masayuki Iwano et al., "Molecular cloning and expression of a novel peptide(LN1) gene: reduced expression in the renal cortex of lupus nephritis in MRL/lpr mouse", Biochemical and Biophysical Research Communications, 229, pages 355 to 360, (1996)	1-40, 42-49
PX	WO, 99/61614, A2 (Incyte Pharm. Inc.), 02 December, 1999 (02.12.99), & EP, 1082426, A2	1-5, 12-14, 26-31, 35-36
X	WO, 00/58473, A2 (Curagen Corporation), 05 October, 2000 (05.10.00), & AU, 200037745, A	1-5, 12-14, 26-31, 35-36
X	Unterman R. D. et al., "Cloning and sequence of several alpha 2u-globulin cDNAs", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78, pages 3478 to 3482, (1981)	42
X	Yamauchi T. et al., "Purification and molecular cloning of prostacyclin-stimulating factor from serum-free conditioned medium of human diploid fibroblast cells", Biochem. J., 303, pages 591 to 598, (1994)	42
X	WO, 94/29448, A1 (NAWATA H.), 22 December, 1994 (22.12.94), & JP, 7-132095, A	42
X	WO, 98/39446, A2 (Human Genome Sci Inc.), 11 September, 1998 (11.09.98) & EP, 972029, A1	42
PX	WO, 00/56889, A2 (Genentech Inc.), 28 September, 2000 (28.09.00), & AU, 200038648, A	42
PX	WO, 00/55174, A1 (Human Genome Sci. Inc.), 21 September, 2000 (21.09.00), & AU, 200036194, A	42

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/02623

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 41,50
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 41 and 50 involve methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(I) of the PCT and Rule 39.1(IV) of the Regulations under the PCT, to search.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

DNAs relating to SEQ ID NOS as set forth in claims of the present case have no chemical structure in common but are common to each other exclusively in the fact of showing elevated expression in proliferative glomerular nephritis model Thy1 rats, compared with normal rats. However, genes showing elevated expression in proliferative glomerular nephritis had been publicly known (for example, PDFG, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, p.6560-6564. 1991). Such being the case, the inventions relating to these SEQ ID NOS are not considered as relating to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept and thus there is no special technical matter common to all claims.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ⁷ C12N15/12, C12Q1/68, C07K14/47		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ⁷ C12N15/00-15/90		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) GENBANK/EMBL/DDBJ/GENESEQ PIR/SWISSPROT/GENESEQ BIOSIS/MEDLINE/WPI		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	W.M.Bagchus et al., "Glomerulonephritis induced by monoclonal anti-Thy 1.1 antibodies" Laboratory Investigation, 55(6), p. 680-687, 1986	1-40, 42-49
Y	WO, 98/24899, A1 (KYOWA HAKKO KOGYO KK) 11. 6月. 1998 (11. 06. 98) & EP, 915156, A1	1-40, 42-49
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日	
25. 06. 01	03.07.01	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 新留 豊	4 B 9838
	電話番号 03-3581-1101 内線 3448	

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO, 00/20575, A1 (GENOX SOYAKU KENKYUSHO KK) 13. 4月. 2000 (13. 04. 00) & JP, 2000-106879, A1	1-40, 42-49
Y	WO, 98/38305, A1 (JAPAN TOBACCO INC) 3. 9月. 1998 (03. 09. 98) & JP, 10-295388, A & EP, 974651, A1	1-40, 42-49
Y	JP, 11-32765, A 9. 2月. 1999 (09. 02. 99) ファミリーなし	1-40, 42-49
Y	Masayuki Iwano et al., "Molecular cloning and expression of a novel peptide(LN1) gene:reduced expression in the renal cortex of lupus nephritis in MRL/lpr mouse" Biochemical and Biophysical Research Communications, 229, p. 355-360, 1996	1-40, 42-49
PX	WO, 99/61614, A2 (INCYTE PHARM INC.) 2. 12月. 1999 (02. 12. 99) & EP, 1082426, A2	1-5, 12-14, 26-31, 35-36
X	WO, 00/58473, A2 (CURAGEN CORP.) 5. 10月. 2000 (05. 10. 00) & AU, 200037745, A	1-5, 12-14, 26-31, 35-36
X	Unterman R.D. et al., "Cloning and sequence of several alpha 2u-globulin cDNAs" Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78, p. 3478-3482, 1981	42
X	Yamauchi T. et al., "Purification and molecular cloning of prostacyclin-stimulating factor from serum-free conditioned medium of human diploid fibroblast cells" Biochem. J., 303, P. 591-598, 1994	42
X	WO, 94/29448, A1 (NAWATA H.) 22. 12月. 1994 (22. 12. 94) & JP, 7-132095, A	42
X	WO, 98/39446, A2 (HUMAN GENOME SCI INC.) 11. 9月. 1998 (11. 09. 98) & EP, 972029, A1	42
PX	WO, 00/56889, A2 (GENENTECH INC.) 28. 9月. 2000 (28. 09. 00) & AU, 200038648, A	42
PX	WO, 00/55174, A1 (HUMAN GENOME SCI INC.) 21. 9月. 2000 (21. 09. 00) & AU, 200036194, A	42

第 I 欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第 1 ページの 2 の続き)

法第8条第3項（PCT 17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 41, 50 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、

請求の範囲 41, 50 は、人の治療方法を包含するものであるから、PCT 17 条 (2) (a) (1) 及び PCT 規則 39.1 (IV) の規定により、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。

2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であって P C T 規則 6. 4 (a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとの国際調査機関は認めた。

本願請求の範囲に記載された各配列番号に係るDNAは共通の化学構造を有するものでなく、増殖性糸球体腎炎モデルThy1ラットで健常ラットと比較して発現が増加していることにおいてのみ共通する。しかし、増殖性糸球体腎炎において発現の増加する遺伝子は公知（例えばPDGF、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, p. 6560-6564, 1991）であるから、各配列番号に関する発明は単一の一般的発明概念を形成するように連関している一群の発明であるとはいえず、請求の範囲全てに共通の特別な技術的事項はない。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。